Série
N° d'ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES
A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Jean GENERMONT

Première Thèse

Recherches sur les modifications durables et le déterminisme génétique de certains caractères quantitatifs chez *Paramecium Aurelia*

Deuxième Thèse : Propositions données par la Faculté

Données récentes sur la structure et les fonctions des ribosomes

22 OCT. 1966

Soutenues le devant la Commission d'Examen

M. TEISSIER Président
M. L'HÉRITIER
M. LAMOTTE } Examinateurs

L'EXPANSION — EDITEUR

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544316_0035

Série
N° d'ordre :

THÈSES

PRÉSENTÉES
A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Jean GENERMONT

Première Thèse

Recherches sur les modifications durables et le déterminisme génétique de certains caractères quantitatifs chez *Paramecium Aurelia*

Deuxième Thèse : Propositions données par la Faculté

Données récentes sur la structure et les fonctions des ribosomes

Soutenues le devant la Commission d'Examen

M. TEISSIER Président
M. L'HÉRITIER, M. LAMOTTE } Examinateurs

L'EXPANSION — EDITEUR

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. ZAMANSKY

Professeurs

MM.	PRENANT	T Anatomie et histologie comparée.
	GRASSE	T Evolution des êtres organisés.
	PREVOST	T Chimie organique.
	WYART	T Minéralogie et cristallographie.
	TEISSIER	T Zoologie.
	AUGER	T Physique quantique et relativité.
	MONNIER	T Physiologie générale.
	PIVETEAU	T Paléontologie.
	ROCARD	T Physique E.N.S.
	CARTAN	T Mathématiques E.N.S.
	LAFFITTE	T Chimie générale.
	N...	T Géométrie supérieure.
	COULOMB	T Physique du globe.
Mlle	COUSIN	T Biologie animale S.P.C.N.
MM.	CHRÉTIEN	T Chimie minérale.
	BOCQUET	T Zoologie.
	KASTLER	T Physique E.N.S.
	EPHRUSSI	T Génétique.
	GAUTHERET	T Biologie végétale C.P.E.M.
	LUCAS R.	Recherches physiques.
	THOMAS A.	T Biologie cellulaire.
	MORAND	T Physique enseignement.
	SOLEILLET	T Physique C.P.E.M.
	FORTIER	T Mécanique expérimentale des fluides.
	DRACH	T Zoologie.
	QUENEY	T Météorologie et dynamique de l'atmosphère.
	GALLIEN	T Embryologie.
	EICHHORN	T Botanique.
	DE CUGNAC	T Biologie végétale S.P.C.N.
Mlle	CAUCHOIS	T Chimie physique.
MM.	THELLIER	T Physique du globe.
	PONCIN	T Mécanique générale.
	DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.
	QUELET	T Chimie organique.
	CAGNIARD	T Géophysique appliquée.
	CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire.
	CUVILLIER	T Micropaléontologie.
	JUNG	T Géologie.
	TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.
	WIEMANN	T Chimie organique et structurale.
	VASSY	T Physique de l'atmosphère.
	DESTOUCHES	T Théorie physique.
	AMIEL	T Chimie générale.
	HOCART	T Minéralogie et cristallographie.
	MATHIEU J.-P.	T Physique optique.
	COUTEAUX	T Cytologie.
	CHOQUET	T Théorie des fonctions et topologie.
	FELDMANN	T Biologie végétale marine.
	JOST	T Physiologie comparée.
	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathématiques.
	SCHWARTZ	T Calcul différentiel et intégral.
	CHOUARD	T Physiologie végétale.
	MALAVARD	T Aviation (technique aéronautique).
	BRELOT	T Analyse supérieure.
	NORMANT	T Synthèse organique.
	BENARD	T Chime appliquée.
	DUGUE	T Statistique mathématique.
	SOULAIRAC	T Psychophysiologie.
	ULRICH	T Physiologie végétale appliquée.
	KIRRMANN	T Théories chimiques.
	CHADEFAUD	T Botanique.
Mlle	LE BRETON	T Physiologie de la nutrition.
MM.	LELONG	T Application de l'analyse à la géométrie.
	DEVILLERS	T Anatomie et histologie comparées.
	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
	FRANÇON	T Physique S.P.C.N.
	GLANGEAUD	T Géographie physique, géologie dynamique.
	DODEMENT	T Mathématiques M.G.P.
	PISOT	T Technique mathématique de la physique.
	ROCH	T Géologie.
	SCHATZMANN	T Astrophysique.
	TERMIER	T Géologie générale.
	ZAMANSKY	T Mathématiques générales.
	LENNUIER	T Physique M.G.P.
	ROUTHIER	T Géologie appliquée.
Mme	TONNELAT	T Physique théorique.
MM.	DIXMIER	T Mathématiques M.P.C.
	SOUCHAY	T Chimie générale.
	AIGRAIN	T Electrotechnique.
	BRUSSET	T Chimie systématique.
	LEVY	T Physique théorique des hautes énergies.
Mme	CHAIX	T Chimie biologique.
Mme	HUREL-PY	T Biologie végétale C.P.E.M.
MM.	PANNETIER	T Chimie générale I.
	BRUN	T Mécanique des fluides I.
Mme	DUBREIL	T Mathématiques (Agrégation).
Mme	LELONG	T Mathématiques II E.N.S.
MM.	BELLAIR	T Géologie S.P.C.N.
	COTTE	T Physique électricité.
	DUBOIS J.-E.	T Chimie organique physique.
	LAMOTTE	T Zoologie E.N.S.
	OLMER	T Energétique générale.
	GAUTHIER	T Mécanique appliquée.
	BARCHEWITZ	T Chimie physique.
	BROSSEL	T Physique atomique.
	BUSER	T Physiologie comparée.
	CAMUS	T Physiologie végétale.
	CURIEN	T Minéralogie et cristallographie.
	POSSOMPES	T Zoologie.
	PULLMANN	T Chimie quantique.
	TEILLAC	T Physique nucléaire et radioactivité.
	VILLE	T Econométrie.
	WILLEMART	T Chimie C.P.E.M.
	FREYMANN	T Recherches physiques.
	ROLLET	T Chimie minérale.
Mlle	JOSIEN	T Chimie S.P.C.N.
MM.	CHEVALLEY	T Géométrie algébrique et théorie des groupes.
	GERMAIN	T Mécanique théorique des fluides.
	LUCAS G.	T Géologie.
	ALLARD	T Chimie physique.
	BERTHELOT	T Physique des particules fondamentales.
	BRICARD	T Météorologie.

Mme	Albe-Fessard	T Psycho-physiologie.
MM.	Julia	T Etude des molécules naturelles complexes.
	Magat	T Physico-chimie des rayonnements.
Mlle	Quintin	T Electrochimie.
MM.	Monod	T Chimie du métabolisme.
	De Possel	T Analyse numérique.
	Charlot	T Chimie analytique.
	Chatelet	T Chimie C.P.E.M.
	Mattler	T Physique S.P.C.N.
	Bouissieres	T Radiochimie.
Mme	Couture	T Thermodynamique et mécanique physique.
MM.	Franc	T Biologie animale C.P.E.M.
	Schnell	T Botanique tropicale.
	Stolkowski	T Physiologie générale.
	Acher	T Chimie biologique.
	Baudoin	T Biologie animale C.P.E.M.
	Beaumont	Biologie animale S.P.C.N.
	Blamont	Géophysique ionosphère.
	Boureau	T Botanique.
	Curie D.	Physique M.G.P.
	Durand-Delga	T Géologie.
	Heller	T Physiologie végétale.
	Tortrat	T Calcul des probabilités.
	Cailleux	T Géologie S.P.C.N.
	Magnan	Physique électricité.
	Daudel	T Mécanique ondulatoire.
Mlle	Fourcroy	Biologie végétale S.P.C.N.
Mme	Choquet-Bruhat	Mécanique analytique et mécanique céleste.
Mlle	Veil	T Physiologie générale.
MM.	Lwoff	T Microbiologie.
	Siestrunck	T Mécanique physique et expérimentale.
	Cabannes	T Mécanique générale.
	Caire	T Géographie physique et géologie dynamique.
	Comolet	Mécanique des fluides.
	Delloue	T Physique de l'exosphère.
	Houillon	Biologie animale C.P.E.M.
	Olivier	Anthropologie.
	Samuel	T Mathématiques (E.N.S. Jeunes filles).
	Thiry	T Mécanique céleste.
	Abeles	T Physique S.P.C.N.
	Amat	T Thermodynamique.
	Auboin	T Géologie.
Mme	Benoit-Gueutal	T Physique nucléaire et radioactivité.
	Bougis	Biologie végétale marine (Villefranche-sur-Mer).
	Rigaudy	T Chimie S.P.C.N.
	Collongues	Chimie C.P.E.M.
	Dubert	Biochimie.
	Nozieres	Physique générale.
	Cadiot	Chimie organique.
	Ivanoff	Océanographie physique.
	François	Zoologie.
	Talbot	Génie chimique.
Mme	Nougarède	Botanique.
MM.	Bruhat	T Mathématique M.P.C.
	Fournet	Electricité générale.
	Deheuvels	T Mathématiques propédeutique.
	Furon	T Géologie S.P.C.N.
Mme	Gans	T Génétique.
MM.	Geneves	Biologie végétale C.P.E.M.
	Hupe	T Pétrographie.
	Hollande	T Biologie générale.
	Lions	T Analyse numérique.
	Maitte	T Chimie organique.
	Nicolas	Géologie appliquée.
	Panigel	Biologie générale.
	Ravier	T Pétrographie.
	Morel F.	T Physiologie comparée.
	Roseau	T Mécanique théorique des fluides.
	Roubine	Electronique E.S.E.
	Silber	T Chimie C.P.E.M.
	Uebersfeld	T Electronique.
	Yvon	T Théories physiques.
	Hervé	T Mathématiques.
Mme	Pecker-Wimel	T Astrophysique.
MM.	Balkanski	Physique M.P.C.
	Le Corre	T Electricité.
	Nataf	T Physique nucléaire et radioactivité.
	Echalier	Biologie animale C.P.E.M.
	Barraud	T Physique C.P.E.M.
	Dars	Géologie structurale et appliquée.
	Camefort	T Botanique (agrégation).
	Vichniewsky	T Mécanique industrielle.
	Sigwalt	T Chimie S.P.C.N.
	Blaquière	Electronique.
	Baruch	Physique propédeutique.
	Arnous	T Physique théorique.
	Slonimski	Génétique.
	Malliavin	T Mathématiques propédeutiques.
	Gaudemar	Chimie propédeutique.
	Brousse	T Mécanique théorique.
	Rosch	T Astronomie.
	Guy	T Physique expérimentale.
	Lazard	Mathématiques M.P.C.
	Morel P.	Physique M.P.C.
	Arsac	Programmation.
	Lefebvre	Chimie M.P.C.
	Bok	Physique propédeutique.
	Chapeville	Biochimie.
	Benoit	Physique C.P.E.M.
	Rio	Chimie C.P.E.M.
	Jauzein	Géologie E.N.S.
	Prévost G.	Biologie végétale C.P.E.M.
	Favard P.	Biologie animale C.P.E.M.
Mme	Charniaux-Cotton	Evolution des êtres organisés.
Mlle	Ficini	Chimie C.P.E.M.
MM.	Lequeux	Astronomie.
	Cohen-Tannoudji	Physique atomique.
	Tavernier	Physique C.P.E.M.
	Durand M.	Biologie animale S.P.C.N.
	Pascaud	Physiologie.
Mme	Petit	Biologie animale C.P.E.M.
MM.	Cagnac	Physique agrégation.
	Falk-Vairant	Physique nucléaire.
	Krasner	T Mathématiques.
	Benzecri	T Statistiques.
	Vinh Mau	Physique M.G.P.
	Duquesnes	Physique C.P.E.M.
	Schutzenberger	Programmation.
	Tremillon	Chimie M.P.C.
	Fayard	Chimie M.P.C.
	Buvet	Chimie C.P.E.M.
	Authier	Physique M.P.C.
	Picinbono	T Physique C.P.E.M.
	Bonnefille	Electrotechnique.
Mme	Puiseux-Dao	Biologie végétale.

Le Secrétaire général

R. Poullain

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

Professeurs

MM. MANGENOT G. T Biologie végétale.
JACQUINOT P. T Optique.
GUINIER A. T Electricité et physique des solides.
GRIVET P. T Electronique.
BLANC-LAPIERRE A. T Accélérateur linéaire.
L'HÉRITIER P. T Génétique des virus.
LEMÉE G. T Ecologie végétale.
MOYSE A. T Physiologie végétale.
DODE M. T Chimie thermodynamique.
DENY J. T Mathématiques.
RIVIÈRE A. T Géologie générale et sédimentologie.
MICHEL A. T Chimie minérale.
MAY R. T Anatomie comparée.
DELANGE H. T Mathématiques.
CHAPELLE J. T Physique expérimentale.
LACOMBE P. T Métallurgie.
BENOIT P. T Physiologie générale.
GUINOCHET J. T Biologie végétale S.P.C.N.
NERON A. T Mathématiques.
NOZERAN R. T Botanique approfondie.
CASTAING R. T Thermodynamique.
ELLENBERGER T Géologie structurale.
LEDERER E. T Chimie biologique.
RIZET J. T Génétique.
LENDER T. T Biologie animale S.P.C.N.
POITOU G. T Mathématiques.
FRÉON P. T Chimie organique.
TONNELAT T Biologie physico-chimique.
BRUNN Jan T Géologie historique.
JEAN M. T Physique nucléaire.
BERGERARD J. T Zoologie.
ROGER J. T Paléontologie.
LEFORT M. T Chimie nucléaire.
LAGARRIGUE A. T Physique des hautes énergies.
JULLIEN J. T Chimie structurale organique.
ARNULF A. T Optique.
ROUAULT M. T Diffraction électronique.
MARÉCHAL A. T Optique théorique et appliquée.
MAZET R. T Mécanique générale.
DAVID Serge T Chimie agrégation.
GUÉRIN H. T Chimie des gaz et des combustibles.
LESIEUR L. T Mathématiques M.P.C. et algèbre.
KOURGANOFF T Astronomie.
ARNOULT P. T Physique électronique.
KAHANE J.-P. T Mathématiques.
BROCHARD J. T Physique propédeutique.
Mme ROIZEN T Physique C.P.E.M.
MM. BERTEIN F. T Electronique.
MALGRANGE B. T Mathématiques.
CORABŒUF E. T Physiologie animale.
FRIEDEL J. T Physique des solides.
CHEVAUGEON J. T Cryptogamie.
MEYER P. T Physique théorique et atomique.
LEHMANN P. T Accélérateur linéaire.
CHABBAL R. T Physique propédeutique.
DELCROIX J.M. T Physique des plasmas.
CERF J. T Mathématiques.
D'ESPAGNAT B. T Physique théorique.
SCHAEFFER P. T Microbiologie.
DE GENNES P. T Physique des solides.
Mme MARTY N. Physique propédeutique.
MM. GOURDIN M. Physique théorique.
PEREZ-Y-JORBA Physique propédeutique.
GORENFLOT E. Biologie végétale S.P.C.N.
RIOU M. Physique nucléaire.
BROUSSE R. Géologie S.P.C.N.
LIORET C. Physiologie végétale.
CLAUSER H. Chimie biologique.
JANCOVICI B. Physique atomique.
LURCAT J. Physique propédeutique.
LE BERRE J. Entomologie.
LAVOREL J. Biophysique.
PERIO P. Physique propédeutique.
FETIZON M. Stéréochimie.
CHEMLA M. Chimie des isotopes.
MAZIÈRES C. Chimie S.P.C.N.
VILKAS M. Chimie C.P.E.M.
BLANDIN A. Physique des solides.
BRUN G. Génétique.
MERCOUROFF Physique agrégation.
ANDRÉ J. Microscopie électronique.
CHEVALLIER F. Physiologie animale.
Mlle MARCOU Biologie cellulaire C.P.E.M.
MM. BOURDU R. Physiologie végétale.
BERKALOFF A. Biologie animale C.P.E.M.
Mlle LEFORT M. Biologie cellulaire C.P.E.M.
Mme LAMBERT Physique C.P.E.M.
MM. BIZOT J.-C. Physique M.P.C.
GUIRAUD J.-P. Mécanique.
LABOUESSE B. Chimie S.P.C.N.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été effectué sous la direction de M. le Professeur Lamotte : il m'en a proposé le sujet et en a suivi le déroulement ; ses conseils, ses encouragements m'ont été des plus précieux, et il m'a donné toutes facilités pour effectuer mes recherches dans les meilleures conditions. Il m'est très agréable, au début de ce mémoire, de lui exprimer toute ma reconnaissance.

*La prise de contact avec les Paramécies, matériel délicat et parfois capricieux, s'est avérée pour moi difficile. Ce n'est qu'après un bref mais fructueux séjour à l'*Institute of Animal Genetics *de l'Université d'Edimbourg que j'ai pu entreprendre une expérimentation efficace. Je remercie très vivement M. le Professeur Beale d'avoir bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et consacrer une partie de son temps à m'initier aux problèmes que pose, tant sur le plan théorique que sur le plan technique, la Génétique des Ciliés. De plus, il a fourni les souches qui ont été utilisées pour mes recherches.*

M. le Professeur L'Héritier m'a donné de précieux conseils ; en outre, il a accepté de lire le manuscrit de ce mémoire : je le prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude pour ses précieuses critiques et suggestions.

M. le Professeur Teissier m'a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury chargé de juger mon travail : je l'en remercie très vivement.

Ce travail doit beaucoup à la compétence et au dévouement de Mme Colardeau. Sans sa collaboration technique, bien des expériences n'auraient pu être menées à leur terme. Elle a accompli des tâches souvent fastidieuses et pénibles. Je lui exprime ma très profonde reconnaissance.

Enfin il m'est impossible de remercier individuellement tous ceux qui, parmi le personnel du Laboratoire de Zoologie de l'Ecole Normale Supérieure ont contribué à la réalisation de ce travail. A tous j'adresse mes profonds remerciements.

INTRODUCTION

C'EST dans le cadre de l'étude des « modifications durables » chez les Ciliés qu'a été entrepris le présent travail. Le phénomène est connu depuis les recherches de Jollos (1921) sur l'adaptation de *Paramecium aurelia* et *P. caudatum* à des conditions de vie anormale : présence dans le milieu de culture d'un toxique (anhydride arsénieux ou chlorure de calcium), ou d'un antisérum spécifique, température anormalement élevée.

Dans le cas de l'adaptation à l'anhydride arsénieux, Jollos avait observé les faits suivants :

1) Lorsqu'une population de Paramécies est cultivée en présence du toxique à une concentration sub-léthale, sa résistance à ce toxique augmente, de sorte qu'elle peut supporter des concentrations qui étaient initialement léthales : il y a *adaptation* au toxique.

2) Si, après avoir séjourné dans la solution sub-léthale, la population est repiquée sur le milieu de culture normal, dépourvu d'anhydride arsénieux, la désadaptation a lieu, suivant les cas, selon deux modalités très différentes :

— *1re modalité :* après retour dans le milieu normal, la résistance de la population décroît rapidement et atteint au bout de quelques générations la valeur qu'elle avait avant l'adaptation.

— *2e modalité :* après retour dans le milieu normal, la résistance à l'anhydride arsénieux reste pendant de nombreuses générations bien supérieure à la valeur qu'elle avait avant l'adaptation. La désadaptation n'est complète qu'au bout d'un délai qui peut atteindre dans certains cas une centaine de générations. C'est ce phénomène que Jollos a désigné sous le nom de « Dauermodifikation » ou modification durable.

3) La modification durable n'apparaît que chez des populations cultivées pendant un temps suffisant à concentration sub-léthale : de l'ordre d'une centaine de générations. Elle n'apparaît que rarement si l'on a pris soin de procéder à l'adaptation de façon progressive, en évitant toute mortalité (adaptation sans sélection) ; elle est particulièrement nette si l'on a pratiqué une intense sélection au cours de l'adaptation, en exposant la population à une concentration en anhydride arsénieux telle qu'une faible proportion des paramécies survive : ces survivants sont ramenés sur un milieu faiblement concentré, et l'opération est recommencée à plusieurs reprises, en augmentant progressivement les concentrations utilisées.

4) La désadaptation est hâtée par l'intervention dans la population de phénomènes sexuels : conjugaison, ou autogamie. Il arrive que, lors d'une autogamie, la résistance d'une population présentant la modification durable tombe brusquement à la valeur correspondant à une population non adaptée, puis revienne à une valeur plus élevée à l'occasion d'une autogamie ultérieure.

5) Il arrive qu'une population désadaptée présente une résistance au toxique inférieure à la résistance qu'elle avait avant l'adaptation : il s'est donc produit une *sensibilisation.* Celle-ci se présente comme une modification durable, c'est-à-dire que la « résistance » redevient « normale » au bout d'un nombre relativement grand (plusieurs dizaines) de générations.

Depuis les travaux de Jollos des résultats analogues ont été obtenus notamment par Orlova (1941) à propos de l'adaptation au chlorure de calcium chez *Paramecium caudatum* et *P. multimicronucleatum,* et par Poljansky (1948, 1958) à propos de l'adaptation aux températures élevées chez *P. caudatum.*

De tout cet ensemble de recherches ressortent les résultats essentiels suivants :

1) Des modifications durables peuvent apparaître dans une population appartenant à un clone se multipliant par voie exclusivement végétative : une telle population est de constitution génétique homogène, aux mutations près, et n'offre à l'origine aucune prise à la sélection.

2) Il existe des clones susceptibles de donner lieu à des modifications durables, alors que dans d'autres elles ne se produisent pas.

3) Certains types d'adaptation ne conduisent jamais à des modifications durables : c'est le cas de l'adaptation au chlorure de sodium.

Ces travaux n'ont pas permis de fournir une interprétation satisfaisante au problème des modifications durables, excepté dans le cas de l'adaptation à un antisérum : on sait en effet que l'exposition ménagée à un antisérum entraîne chez *Paramecium aurelia* une modification du type antigénique (Sonneborn, 1947).

Jollos (1921), refusant *a priori* d'admettre que les conditions de milieu puissent agir sur l'appareil nucléaire, considérait que les modifications durables résultaient de variations héréditaires du cytoplasme acquises sous l'influence du traitement subi par les Paramécies. Toutefois, le rôle joué dans la cinétique de la désadaptation par la conjugaison ou l'autogamie suggère, ainsi que l'a souligné Sonneborn (1947), que le macronucleus n'est pas étranger au phénomène. On sait précisément que le macronucleus exerce un contrôle génétique sur certains caractères : le type sexuel dans les variétés du groupe A de *Paramecium aurelia* (Sonneborn, 1937) et chez *Tetrahymena pyriformis* (Nanney, Caughey et Tefankjian, 1955).

Le problème du déterminisme génétique des modifications durables chez les Ciliés méritait donc d'être étudié à la lumière des acquisitions récentes de la génétique des Ciliés. C'est dans cet esprit qu'a été entrepris ce travail. Il a été orienté sur l'adaptation au chlorure de calcium chez *Paramecium aurelia.* Cette espèce a été choisie comme matériel parce que, parmi tous les Ciliés, elle est de beaucoup la mieux connue au point de vue

génétique, grâce en particulier aux travaux de Sonneborn, de Beale et de leurs collaborateurs ; elle présente d'autre part l'avantage d'une multiplication rapide (5 divisions par jour dans les conditions optimales) ; il existe chez cette espèce un phénomène sexuel uniparental, cyclique, l'autogamie, grâce auquel il est aisé d'obtenir des individus homozygotes pour tous leurs gènes, et donc, par multiplication végétative de tels individus, des lignées rigoureusement pures au point de vue génétique. Les techniques d'expérimentation sur cette espèce sont actuellement bien au point (Sonneborn, 1950) ; enfin, Jollos avait travaillé sur cette espèce.

Le chlorure de calcium a été choisi parce que l'adaptation à ce sel est connue pour conduire à des modifications durables, alors que l'adaptation au chlorure de sodium n'en produit semble-t-il jamais (Orlova, 1941 ; Beale, 1953) : ces résultats différents obtenus avec des substances chimiquement apparentées suggéraient des possibilités de comparaison intéressantes.

Avant toute tentative d'interprétation des modifications durables elles-mêmes, il était indispensable de connaître aussi bien que possible les caractéristiques des souches de *P. aurelia* non adaptées, et en particulier les possibilités de variations qu'elles peuvent présenter en ce qui concerne la résistance au chlorure de calcium : c'est le problème du déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium. A titre de comparaison se posait aussi le problème du déterminisme génétique de la résistance au chlorure de sodium. Enfin, il est apparu intéressant d'étudier le déterminisme génétique de la vitesse de multiplication. Ces trois questions constituent l'essentiel du travail présenté ici. Les résultats obtenus permettent de se faire une idée des mécanismes qui interviennent dans le déterminisme génétique des modifications durables. Celui-ci ne pourra être connu avec précision que lorsque, à la lumière de ces résultats, aura été effectuée une nouvelle expérimentation : ces expériences, fort longues, sont actuellement en cours.

Mais les résultats obtenus se sont révélés intéressants à un autre point de vue : ils sont en relation avec le problème de la structure du macronucleus des Ciliés et du mécanisme de sa différenciation. Ce problème a fait l'objet durant les dernières années de nombreux travaux, portant notamment sur *Tetrahymena pyriformis* (Allen et Nanney, 1958 ; Nanney, Nagel et Touchberry, 1964). Les efforts faits pour les résoudre sont susceptibles d'apporter des informations utiles dans le cadre du problème plus général de la différenciation cellulaire, bien que le macronucleus ait, par son hyperpolyploïdie, une structure tout à fait exceptionnelle pour un noyau cellulaire.

Les résultats obtenus au cours de ce travail devront donc être discutés sous deux points de vue différents : le point de vue de l'adaptation d'une population à des variations des conditions de milieu d'une part, le point de vue du mécanisme de la différenciation au niveau cellulaire d'autre part.

CHAPITRE I

LE MATÉRIEL : PARAMECIUM AURELIA

I. — MORPHOLOGIE. APPAREIL NUCLEAIRE

L'espèce *Paramecium aurelia* se distingue des autres espèces du même genre par sa taille relativement petite (longueur : 120 à 170 µ), sa forme (section transversale à peu près circulaire), le nombre de ses micronuclei (2) et leur structure (vésiculeuse).

Le *macronucleus* est, comme celui de la plupart des Ciliés, considéré comme polyploïde. Sa teneur en A.D.N. est 430 fois supérieure à celle du micronucleus (Woodard, Gelber et Swift, 1961). Sa structure n'est connue que de façon imparfaite ; toutefois les observations en microscopie électronique (Sonneborn, 1953 ; Jurand, Beale et Young, 1962) révèlent qu'il renferme deux catégories de structures denses aux électrons : les unes (*large bodies*) renfermeraient simultanément de l'A.R.N. et de l'A.D.N. ; leur aspect rappelle quelque peu celui du micronucleus, bien qu'elles soient plus petites (diamètre : 0,5 µ, au lieu de 3 µ); plus ou moins sphériques dans les conditions normales, elles acquièrent lors de la division une forme allongée suivant l'axe du corps cellulaire. Les autres (*small bodies*) sont plus petites (diamètre : 0,1 µ) et ne semblent contenir aucun acide nucléique.

II. — REPRODUCTION

La multiplication végétative se fait, comme chez la plupart des Ciliés, par division binaire transversale. Les micronuclei subissent, simultanément, une mitose sans particularité intéressante. Le macronucleus se divise par étirement.

La reproduction sexuée comporte un mécanisme biparental, la *conjugaison,* décrite par Maupas (1889) et par Hertwig (1889), et un mécanisme uniparental, *l'autogamie,* connue avec précision grâce aux observations de Diller (1936).

La *conjugaison* débute par l'accolement, par la face ventrale, de deux individus. Les phénomènes nucléaires sont représentés de façon schématique par la fig. 1 ; ils comportent essentiellement pour chacun des deux partenaires : la dégénérescence du macronucleus, la méiose des deux micronuclei, la dégénérescence de 7 des 8 micronuclei haploïdes ainsi formés ; la mitose du micronucleus haploïde restant, fournissant deux pronuclei, dont l'un (mâle) pénètre dans le corps du partenaire et y fusionne avec le pronucleus femelle resté sur place ; la multiplication du syncaryon, qui fournit quatre micronuclei dont deux subissent une mitose supplémentaire, tandis que les deux autres se transforment en macronuclei. La dernière phase consiste en

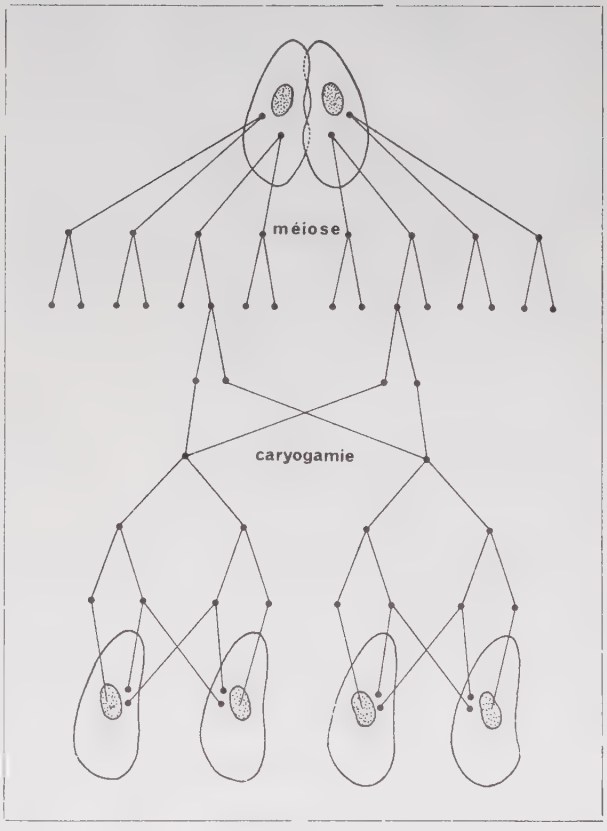

FIG. 1. — Diagramme représentant les phénomènes nucléaires de la conjugaison.

la division transversale de chacun des ex-conjugants (ils se sont séparés après la caryogamie).

Au point de vue génétique, trois faits importants sont à noter :

1) tous les descendants d'un même couple de conjugants possèdent la même constitution génique ;

2) des échanges de cytoplasme peuvent exceptionnellement avoir lieu entre les deux partenaires au moment de l'échange des pronuclei mâles. Ce phénomène peut être induit par l'action d'un antisérum immobilisateur ; il a permis d'analyser certains mécanismes d'hérédité cytoplasmique ;

3) au sein du cytoplasme d'un ex-conjugant se différencient séparément deux macronuclei ; ils peuvent acquérir au cours de cette différenciation des caractéristiques différentes.

L'*autogamie* présente, à part la formation du couple, la même succession d'événements que la conjugaison (fig. 2). La différence essentielle réside dans le fait que la caryogamie se fait entre les deux pronuclei frères. Il en résulte que le syncaryon est nécessairement homozygote pour tous ses gènes : un individu sortant d'autogamie fournit donc par sa multiplication une lignée rigoureusement pure.

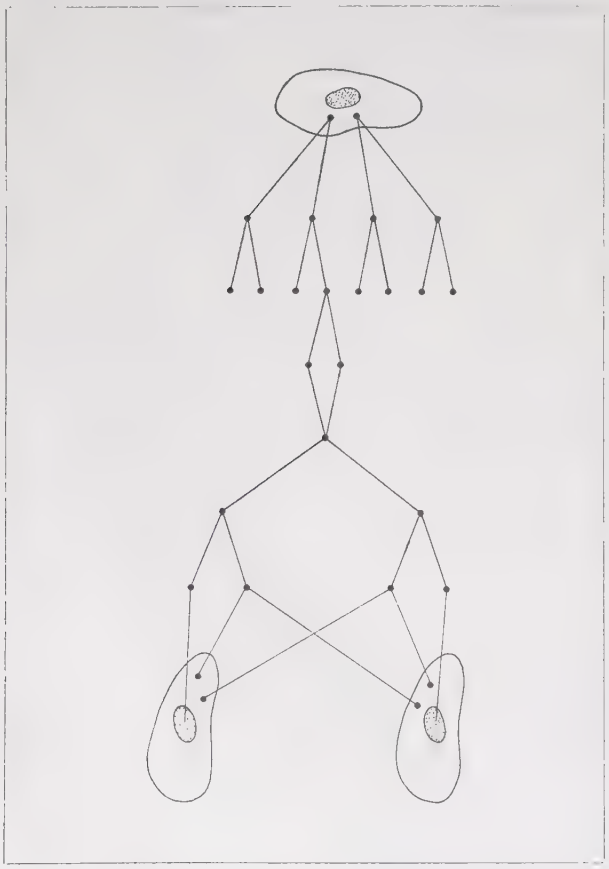

FIG. 2. — Diagramme représentant les phénomènes nucléaires de l'autogamie

L'*endomixie* (Woodruff et Erdmann, 1914) correspond vraisemblablement à une description erronée de l'autogamie. Le terme de *parthénogénèse,* employé par les anciens auteurs, notamment Jollos, est synonyme d'autogamie.

La *régénération macronucléaire* se produit après la conjugaison ou l'autogamie lorsque, soit spontanément (le cas est exceptionnel), soit sous l'action de facteurs externes (par exemple une température de 38° C), les micronuclei résultant de la multiplication du syncaryon sont inaptes à se différencier en macronuclei. Au cours des divisions cellulaires qui se produisent malgré l'absence de macronucleus, les fragments de l'ancien macronucleus en dégénérescence se répartissent, au hasard, entre les cellules-filles et reconstituent chez celles-ci un macronucleus fonctionnel. On peut ainsi obtenir des Paramécies possédant un macronucleus de constitution génique différente de celle des micronuclei ; dans ces conditions, le phénotype exprimé correspond au génotype du macronucleus.

Le *cycle de reproduction* comporte une alternance de phases de multiplication asexuée et de reproduction sexuée. Une lignée qui vient de subir la conjugaison se multiplie d'abord exclusivement par division binaire ; durant cette phase, dite d'*immaturité,* il est impossible d'induire la conjugaison ou l'autogamie. La phase suivante est celle de *maturité :* les Paramécies sont alors aptes à la reproduction sexuée, à condition que les conditions soient favorables (on peut alors induire la conjugaison ou l'autogamie en cessant l'apport de nourriture). Si aucun phénomène sexuel ne se produit pendant la phase de maturité, les Paramécies entrent en *sénescence.* Chez *Paramecium aurelia,* cette sénescence se traduit par une baisse de la vitesse de multiplication et surtout par l'entrée en autogamie qui survient obligatoirement et met ainsi fin à la phase de sénescence : cette particularité est propre à *P. aurelia ;* elle ne se retrouve pas, par exemple, chez *P. caudatum,* chez qui l'autogamie est exceptionnelle, et dont la sénescence se traduit essentiellement par l'inaptitude à la conjugaison et, à longue échéance, par la mort de la lignée.

Comme la conjugaison, l'autogamie initie un nouveau cycle ; il diffère du précédent par l'absence de phase d'immaturité.

III. — VARIETES ET TYPES SEXUELS : DETERMINISME GENETIQUE DU TYPE SEXUEL

La découverte des types sexuels chez *Paramecium aurelia* (Sonneborn, 1937) est à la base de tous les travaux modernes sur la Génétique des Ciliés. L'espèce *Paramecium aurelia* renferme en fait plusieurs *variétés,* encore appelées syngènes, qui sont de véritables espèces au sens génétique du terme, étant interstériles. Chacune de ces variétés (on en connaît douze) renferme deux types sexuels, autostériles et interfertiles (dans la variété I, ce sont les types I et II, dans la variété 2, les types III et IV, etc...).

Le déterminisme génétique du type sexuel est bien connu grâce aux travaux de Sonneborn (1937, 1947)

et de Nanney (1957) : le type sexuel est contrôlé par le macronucleus. Toutefois, ce contrôle peut se présenter suivant des modalités différentes, selon les variétés. Dans les variétés du groupe A (la variété 1, par exemple), le macronucleus acquiert sa spécificité de façon aléatoire lors de sa différenciation à partir d'un micronucleus à la suite de la conjugaison ou de l'autogamie. Une population est donc homogène pour le type sexuel à condition que les macronuclei de tous les individus dérivent par amitose ou par régénération macronucléaire d'un macronucleus unique. Les types acquis par les deux macronuclei qui se développent au sein du même individu sont sans corrélation avec le type sexuel de cet individu et sans corrélation entre eux. Le seul facteur qui agisse sur la probabilité qu'a un macronucleus d'acquérir un type sexuel plutôt que le type complémentaire est la température : dans la variété 1, la probabilité d'acquérir le type II vaut, en fonction de la température centésimale t :

$$\left(18{,}4 + \frac{t}{0{,}51}\right) 10^{-2}.$$

Dans les variétés du groupe B, le mécanisme semble très différent, le déterminisme paraissant purement cytoplasmique ; toutefois des expériences utilisant la régénération macronucléaire montrent que c'est bien le macronucleus qui contrôle le type sexuel, le rôle du cytoplasme étant d'orienter la différenciation du macronucleus.

Pour être complet, il faut signaler que des gènes peuvent intervenir dans le déterminisme du type sexuel : on connaît un gène mt^I, récessif, rendant le macronucleus inapte à acquérir le type II, dans la variété 1. On peut ainsi, dans la variété 1, disposer de souches monotypiques, homozygotes pour le gène mt^I, permettant de déterminer par confrontation le type sexuel d'une population quelconque de cette variété.

IV. — SOUCHES UTILISEES

Ce travail a été effectué en majeure partie sur des souches de la variété 1. Cette variété appartient au groupe A et peut être caractérisée en outre par les durées des deux phases d'immaturité et de maturité du cycle de reproduction : elles sont de longueur égale et correspondent chacune à environ 40 divisions cellulaires soit une dizaine de jours dans les conditions normales d'expérimentation). Les deux souches qui ont été surtout utilisées sont la souche 60 et la souche 90. Quelques expériences ont porté sur la souche 41. Enfin la souche 16, monotypique, a été utilisée pour les déterminations de type sexuel.

Quelques observations ont porté sur la souche 131, qui appartient à la variété 8. Cette variété diffère de la précédente par le mode de déterminisme du type sexuel (groupe B) et par les longueurs des phases du cycle de reproduction (6 divisions cellulaires pour la phase d'immaturité, 25 pour la phase de maturité.

Toutes ces souches ont été fournies par le Professeur Beale, de l'Université d'Edimbourg.

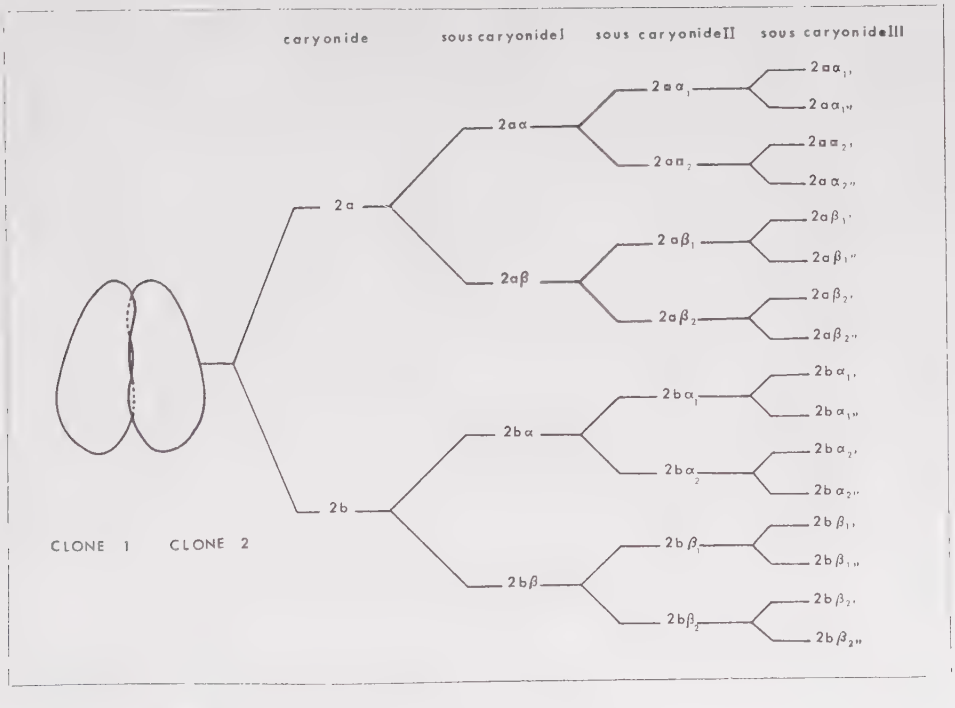

FIG. 5 — Analyse de la descendance d'un couple de conjugants.

V. — TERMINOLOGIE

Une *souche* est la population obtenue à partir d'un seul individu, quels que soient les modes de reproduction, sexuée ou asexuée, intervenant dans cette population. Une telle population n'est pas nécessairement homogène au point de vue génétique.

Un *clone* est une population dérivant d'un seul individu par *multiplication exclusivement asexuée.* Tous les individus d'un clone ont donc la même constitution génique. Dans les variétés du groupe B, ils sont tous de même type sexuel.

Un *caryonide* est une population constituée d'individus dont les macronuclei dérivent tous, par amitose, d'un *macronucleus unique.* Un caryonide est, sauf exception très rare et limitée à certaines souches, homogène ou de type sexuel.

Nous désignerons par *lignée pure* une population constituée d'individus présentant tous la même constitution génique, et de plus homozygotes pour tous leurs gènes. Une telle population peut être obtenue aisément chez *Paramecium aurelia :* la descendance d'un individu ayant subi l'autogamie est une lignée pure.

L'ensemble des deux clones constituant la descendance d'un couple de conjugants est un *synclone.* Un synclone est donc constitué de deux clones dont chacun renferme deux caryonides (fig. 3). Dans certaines analyses de croisements, il a été nécessaire d'étudier des populations plus restreintes que les caryonides ; ceci conduit à définir :

— *Les sous-caryonides de* 1er *ordre* (nous écrirons pour simplifier *sous-caryonides I*), issus de chacun des deux produits de la division de l'individu-père d'un caryonide.

— *Les sous-caryonides de* 2^{e} *ordre* (ou *sous-caryonides II*), issus de chacun des produits de la seconde division de l'individu-père d'un caryonide.

— *Les sous-caryonides de* 3^{e} *ordre* (ou *sous-caryonides III*), issus de chacun des produits de la 3^{e} division de l'individu-père d'un caryonide.

CHAPITRE II

TECHNIQUES

Les techniques générales concernant l'expérimentation sur les Paramécies ont été décrites en détail par Sonneborn (1950). Aussi ne seront-elles rappelées ici que de manière succincte. Les méthodes plus particulières à ce travail seront examinées avec plus de détails.

I. — CULTURES

1) Milieu de culture.

Tout ce travail a été effectué sur des Paramécies maintenues en culture monoxénique, l'organisme associé étant la bactérie *Aerobacter aerogenes*. Le milieu de culture consiste en une décoction de laitue séchée, stérilisée, puis ensemencée en bactéries. Il est préparé de la façon suivante.

La laitue est lavée avec soin à l'eau distillée puis desséchée au four à 180° C. Maintenue à l'abri de l'humidité, elle peut être conservée plusieurs années.

La décoction est préparée en déposant dans 1 litre d'eau distillée froide 1,5 g de laitue séchée ; l'ensemble est porté à l'ébullition quelques minutes, puis filtré. Le liquide obtenu est réparti dans des fioles d'Erlenmeyer et stérilisé à l'autoclave 20 minutes à 120° C. Le milieu stérile ainsi obtenu peut être conservé à la température ordinaire plusieurs semaines.

La souche pure de bactéries *Aerobacter aerogenes* est conservée au frigidaire en tubes inclinés sur milieu gélosé peptoné. A partir de ces cultures qui sont repiquées tous les deux ou trois mois, on ensemence de petites quantités de décoction de laitue (quelques cm^3 en tubes à essais) : les suspensions obtenues peuvent être conservées quelques jours au frigidaire pour ensemencer le milieu qui sera utilisé pour les cultures de Paramécies (0,1 cm^3 de suspension pour 100 cm^3 environ de milieu stérile). Le milieu ensemencé est placé à l'étuve à 37° C pendant 12 à 15 heures : la croissance de la culture bactérienne est alors terminée (sa densité est de l'ordre de 2.10^8 bactéries par cm^3).

C'est cette suspension bactérienne qui constitue le milieu de culture pour les Paramécies. Toutes les opérations décrites ci-dessus sont effectuées avec les techniques bactériologiques ordinaires. Le milieu obtenu peut être utilisé immédiatement ou conservé quelques jours au frigidaire.

2) Différents types de cultures.

Suivant l'effectif des populations étudiées, les Paramécies sont cultivées soit sur lames à concavités, soit sur salières, soit en tubes à essais.

Les lames en concavités (chaque lame, en plexiglass, est creusée de 3 concavités) permettent de cultiver sur environ 0,8 cm^3 de milieu de culture des populations dont l'effectif ne dépasse pas la centaine (à moins que l'on ne cherche tout spécialement à obtenir une population en état d'inanition). Elles sont en particulier utilisées pour réaliser des *cultures à isolement quotidien :* on désigne ainsi des populations maintenues en repiquant chaque jour un seul individu.

Les salières peuvent contenir 3 à 4 cm^3 de milieu de culture ; on peut y cultiver des populations de quelques centaines d'individus au maximum.

Les tubes à essais sont utilisés pour conserver quelques jours, sans repiquage, des populations en cours de multiplication ; on peut obtenir, en fin de croissance, environ 10^4 individus (sur 15 à 20 cm^3 de milieu de culture). Il importe alors de renouveler le milieu sous peine de voir les Paramécies mourir : pour « recharger » le tube, on le vide de la majeure partie de son contenu, puis on le remplit de milieu frais. C'est ainsi que sont conservées les souches ; à la température ordinaire, il est bon de procéder à une recharge tous les 15 jours.

3) Manipulation des Paramécies.

La plupart des manipulations (isolements d'individus, repiquages, dénombrements) sont effectuées sous la loupe binoculaire à l'aide d'une pipette dont la partie effilée, longue de 3 à 4 cm, a un diamètre de l'ordre de 100 µ. Pour les transferts d'une population d'une concavité ou d'une salière à un tube à essais (ou l'inverse) on utilise une pipette bien plus grosse (diamètre de la partie effilée : 2 mm environ).

Pour conserver aux cultures leur caractère monoxénique et aussi pour éviter les mélanges de souches de Paramécies, certaines précautions doivent être prises, le but recherché ne pouvant être, toutefois, pour des raisons de commodité, une stérilité absolue : les tubes à essais sont stérilisés à l'autoclave (15 minutes à 135° C) ; les salières et lames à concavités sont flambées au moment de l'emploi

à l'aide de la flamme d'un bec Bunsen, et sont ensuite placées dans des boîtes de matière plastique préalablement stérilisées par le même procédé ; les pipettes sont, entre chaque prise, sommairement stérilisées en les plongeant dans de l'eau distillée bouillante ; elles sont éventuellement refroidies ensuite en les plongeant dans du milieu de culture stérile. Les autres précautions consistent à maintenir aussi propre que possible (lavage à l'alcool) la paillasse et la loupe binoculaire, à éviter les courants d'air, à ne sortir les cultures des boîtes que pendant le temps strictement nécessaire aux manipulations.

Moyennant ces précautions, les contaminations sont suffisamment rares pour ne pas constituer une gêne dans l'expérimentation.

II. — INDUCTION DES PROCESSUS SEXUELS

1) Induction et détection de l'autogamie.

Le principe de la méthode utilisée pour induire l'autogamie est fondé sur les deux propriétés suivantes :

1. L'échéance de l'autogamie est hâtée par la privation de nourriture.

2. Dans une population résultant de la multiplication végétative d'un individu isolé depuis peu de temps, l'autogamie survient de façon simultanée chez tous les membres de cette population.

En pratique, on réalise des cultures à isolement quotidien. Chaque culture est conservée 3 jours, temps suffisant pour que, à 27° C le milieu de culture soit complètement épuisé : les conditions d'une apparition rapide et synchrone de l'autogamie sont ainsi réalisées. On recherche l'autogamie dans les cultures âgées de 3 jours (fig. 4) ; une culture est considérée comme « en autogamie » si 90 % au moins des individus présentent des remaniements nucléaires.

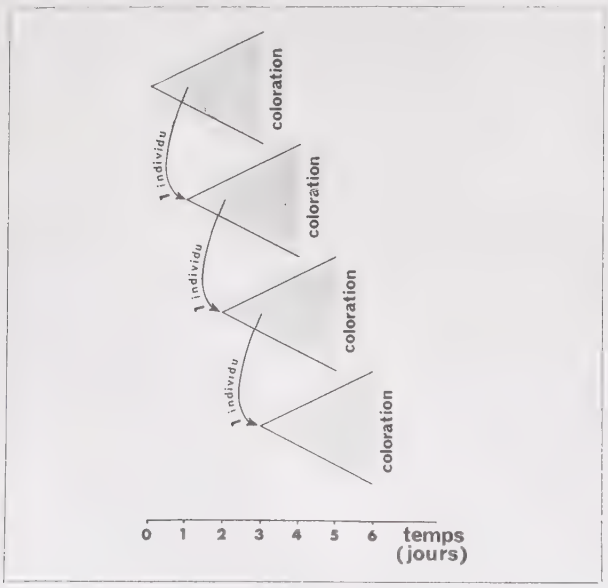

Fig. 4. — Principe de l'induction de l'autogamie.

La détection des remaniements nucléaires se fait par observation au microscope d'un échantillon d'individus prélevés dans la culture à l'aide de la micropipette et rassemblés sur une lame dans une goutte de milieu aussi petite que possible, fixés et colorés à l'aide d'une goutte de mélange suivant :

carmin acétique	21	parties
acide acétique glacial	4,6	«
acide chlorhydrique fumant	0,4	«
vert rapide (solution alcoolique à 1 %) ..	2	«
eau distillée	8	«

Cette technique de coloration est rapide et sûre : quelques instants de contact avec le colorant suffisent pour que le macronucleus soit observable ; l'observation se fait à faible grossissement ; il n'est pas utile de placer de lamelle sur la préparation.

2) Induction de la conjugaison et réalisation de croisements.

La conjugaison se produit lorsqu'entrent en contact deux individus appartenant à la même variété, de types sexuels complémentaires, dans un état physiologique convenable.

La réalisation d'un croisement dépend donc de l'obtention de populations pures pour le type sexuel et de types sexuels complémentaires d'un part, en état de réactivité sexuelle d'autre part. La première condition est aisée à réaliser dans les variétés du groupe A en isolant des individus sortant d'autogamie : leur multiplication végétative engendre des populations pures pour le type sexuel et appartenant avec des probabilités complémentaires dépendant de la température aux deux types sexuels opposés ; dans les variétés du groupe B on obtient ce résultat en séparant les deux partenaires d'une paire de conjugants trouvés dans une culture.

La seconde condition est réalisée lorsque la population pure pour le type sexuel, après avoir subi une phase de croissance normale (il est préférable que la vitesse de multiplication ne soit ni trop faible ni trop forte), a complètement épuisé son milieu de culture. Dans une culture en tubes à essais, les Paramécies sont alors rassemblées en un anneau très dense à la partie supérieure du liquide ; elles sont petites, actives, et ne se multiplient plus.

En pratique la réalisation d'un croisement entre souches appartenant à la variété 1, seul cas que nous ayons envisagé dans ce travail, comporte les étapes suivantes (fig. 5) :

1. Induction de l'autogamie dans les deux souches.

2. Isolement d'individus sortant d'autogamie.

3. Croissance sur lames à concavités, puis sur tubes, des caryonides ainsi obtenus.

4. Confrontation des caryonides lorsqu'ils ont atteint l'état de réactivité sexuelle.

5. Isolement des couples de conjugants : ce travail exige des précautions particulières ; il importe en effet de récolter des couples qui subissent effectivement la

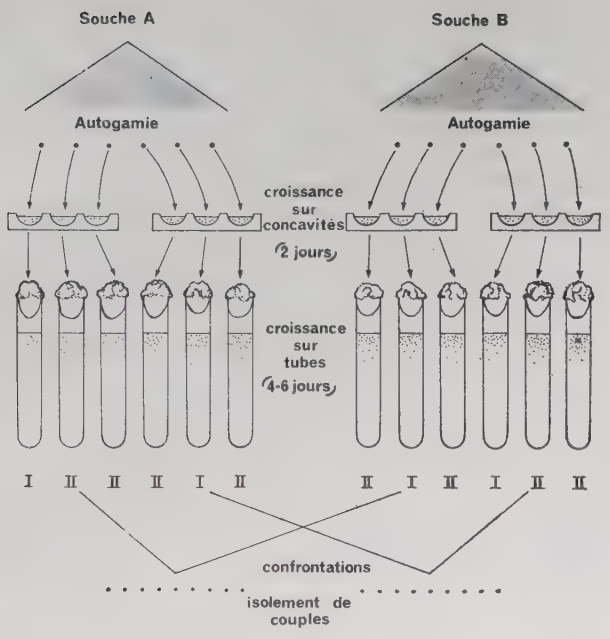

FIG. 5. — Protocole expérimental utilisé pour réaliser un croisement entre deux souches (A et B) de la variété 1.

conjugaison et non des couples d'individus qui, appariés imparfaitement, se séparent avant d'avoir subi la conjugaison. Seuls sont retenus les couples qui ne se dissocient pas après avoir été aspirés dans la micropipette puis rejetés brutalement au moins trois fois de suite.

III. — MESURE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION D'UNE POPULATION

1) DÉFINITION.

Pour une population idéale dans laquelle les individus se diviseraient de façon rigoureusement synchrome, si n_o est son effectif au temps O, et si elle subit pendant le temps t un nombre de k de divisions, son effectif devient $n = n_o . 2^k$ et il est aisé de définir sa vitesse de multiplication comme le nombre de divisions subies durant l'unité de temps :

$$v = \frac{k}{t} = \frac{1}{t} \log_2 \frac{n}{n_o}$$

Dans les populations réelles, ce synchronisme n'est pas réalisé. Cependant, connaissant son effectif n_o au temps O et son effectif au temps t, on peut toujours calculer la quantité $v = \frac{1}{t} \log_2 \frac{n}{n_o}$ que nous désignerons comme la *vitesse de multiplication moyenne* de la population pendant le laps de temps considéré.

Le principe de la mesure de la vitesse de multiplication d'une population est donc très simple : on prélève dans cette population un échantillon d'effectif n_o, que l'on met en culture. Au bout d'un temps connu, on détermine le nombre n d'individus présents dans la culture. L'application de la formule précédente fournit la valeur de v.

En pratique, pour obtenir une valeur qui soit représentative des caractéristiques génétiques de la population étudiée, et non des conditions dans lesquelles est cultivé l'échantillon, il importe de choisir de façon convenable les valeurs du temps t et de l'effectif n_o.

2) CHOIX DES CONDITIONS DE MESURE.

Le choix de la valeur de t a été dicté par des considérations de commodité. Il est particulièrement simple d'effectuer les dénombrements exactement 24 heures après la mise en culture. Nous avons donc choisi $t = 24$ heures. Cette même durée de 24 heures a été choisie comme unité de temps : les vitesses de multiplication sont donc exprimées en nombre de divisions cellulaires par jour.

Quant à la valeur de n_o, elle se trouve conditionnée par plusieurs impératifs contradictoires :

— n_o doit être aussi grand que possible afin de constituer un échantillon valable de la population.

— n_o doit être suffisamment petit pour que l'effectif n atteint au bout de 24 heures puisse être dénombré rapidement.

— n_o doit être adapté à la quantité de milieu de culture dans laquelle s'effectue la croissance de l'échantillon. Il est en effet indispensable d'éviter que la croissance ne soit ralentie par l'épuisement du milieu de culture avant l'expiration du délai de 24 heures.

La quantité du milieu de culture a été fixée pour chaque échantillon d'effectif n_o à 0,8 cm^3, volume maximum

TABLEAU I. — **Vitesse de multiplication (v) en fonction de l'effectif (i) de l'inoculum.**

i	n_o	n	v
1	60	705	3,55
2	60	761	3,66
4	60	755	3,65
8	64	927	3,87
16	48	663	3,79
32	96	1.040	3,44
64	192	1.491	2,96
128	256	1.514	2,56

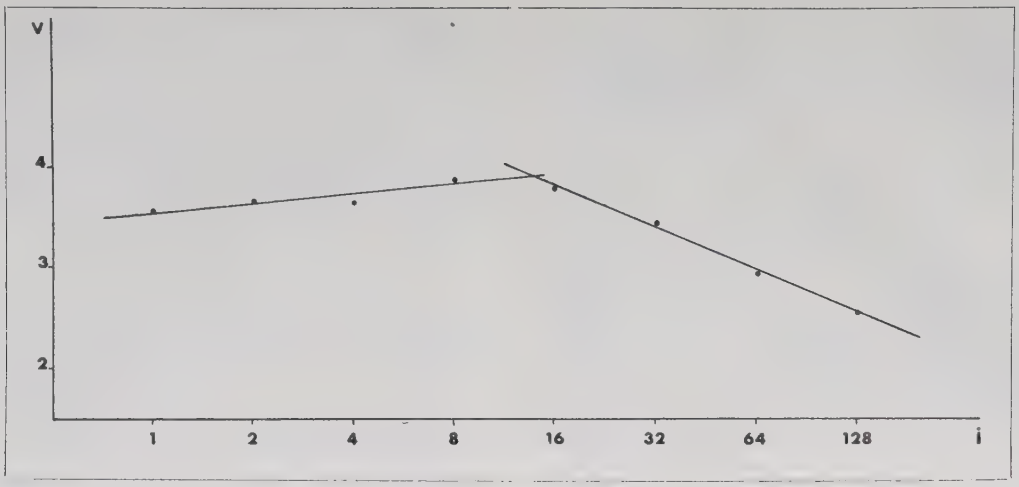

FIG. 6. — Représentation graphique des variations de la vitesse de multiplication, sur lames à concavités, pendant 24 heures, en fonction de l'effectif de l'inoculum (coordonnées semi-logarithmiques)

que peut renfermer une concavité. D'autre part, bien que tout le reste de l'expérimentation ait été effectuée à 27° C, toutes *les mesures de vitesse de multiplication ont été faites à* 25° C, ce qui provoque un ralentissement de la croissance permettant d'utiliser un effectif n_o plus grand que celui qui aurait pu être utilisé à 27° C.

Dans ces conditions, la valeur optimale de n_o a été déterminée par une expérience préliminaire : des cultures sur concavités sont initiées avec des inoculums d'effectifs (i) variés : 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 et 128 individus. Ces cultures sont maintenues 24 heures à 25° C, puis dénombrées, et les 8 vitesses de multiplication sont calculées. Les résultats sont portés dans le tableau I.

La représentation graphique (fig. 6), les abscisses étant portées en coordonnées logarithmiques, montre que les 8 points se répartissent en deux groupes : les 4 points correspondant à $i \leqslant 8$ sont sensiblement alignés ; la droite de régression de v en $\log_2 i$ a une pente légèrement positive, de 0,095. Les points correspondant à $i \geqslant 16$ sont eux aussi sensiblement alignés, mais avec une pente négative : — 0,417. Ce ralentissement est dû à la raréfaction de la nourriture.

Les deux droites de régression se coupent en un point dont l'abscisse est environ $i = 14$. On peut donc admettre que, pour $i < 14$ la raréfaction de la nourriture n'intervient pas dans le déterminisme de la vitesse de multiplication. Donc en choisissant $i = 10$, on peut être certain que les variations observées d'une culture à l'autre seront bien représentatives des caractéristiques de l'échantillon utilisé.

Dans la suite, la détermination de la vitesse de multiplication d'une population en phase de croissance exponentielle sera donc toujours faite en plaçant, *sur une concavité,* 10 individus prélevés au hasard dans la population, soit n_o, et en dénombrant, au bout de 24 heures, l'effectif obtenu : n. La vitesse de multiplication est :

$$v = \log_2 \frac{n}{10}$$

IV. — TESTS DE RESISTANCE

Pour étudier les résistances au chlorure de sodium et au chlorure de calcium, il a été nécessaire de mettre au point des tests simples permettant d'obtenir avec le minimum de manipulations (ceci afin d'effectuer simultanément un grand nombre de tests) un paramètre caractérisant quantitativement la résistance d'une population. Les méthodes classiquement utilisées en toxicologie visent à la détermination soit du TL 50 (temps au bout duquel, en présence du toxique à une concentration déterminée, 50 % des individus sont morts) soit de la DL 50 (dose de toxique nécessaire pour que soient tués 50 % des individus). Nous avons peu employé ces techniques en raison de l'importance du travail qu'elles exigent. Les méthodes utilisées peuvent être groupées en deux ensembles : celles dont le principe repose sur la détermination du temps de survie, et celles dont le principe repose sur la détermination des fréquences de survivants en présence du toxique à une concentration déterminée.

1) ETUDE DES TEMPS DE SURVIE.

La technique d'étude des temps de survie a été utilisée au début de ce travail, en particulier à propos de la résistance au chlorure de sodium. Chaque test est effectué sur 100 individus prélevés au hasard dans la population étudiée. Au temps zéro, ces 100 individus, répartis en 10 groupes de 10 individus, sont mis en présence, sur 10 concavités, de milieu de culture additionné de sel en quantité convenable (dans le cas du chlorure de sodium,

la concentration généralement choisie est de 0,1 N). Placés dans une étuve à 27° C pendant toute la durée du test, ils n'en sont sortis que pour les observations qui sont faites toutes les 15 minutes. Chaque observation consiste à dénombrer les individus morts (la mort est définie par l'arrêt des mouvements ciliaires).

Les résultats peuvent être interprétés de trois façons différentes : soit en calculant à partir de la distribution des temps de survie le temps moyen de survie, soit en déterminant graphiquement à l'aide de la courbe de mortalité (courbe en S) le temps au bout duquel 50 % des individus sont morts, ou TL 50, soit en calculant ce même TL 50 en traitant les données expérimentales par la transformation de probits.

Il est classique en toxicologie de déterminer le TL 50, valeur qui est moins affectée que le temps moyen de survie par les erreurs d'échantillonnage. La meilleure méthode utilisable pour cette détermination est évidemment celle des probits.

Le tableau II fournit un exemple de résultats obtenus dans un test de résistance de ce type (souche 16, chlorure de sodium à la concentration de 0,1 N).

TABLEAU II

Temps (minutes)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225
Nombre de morts	0	0	1	2	4	7	16	27	48	72	84	94	97	99	100

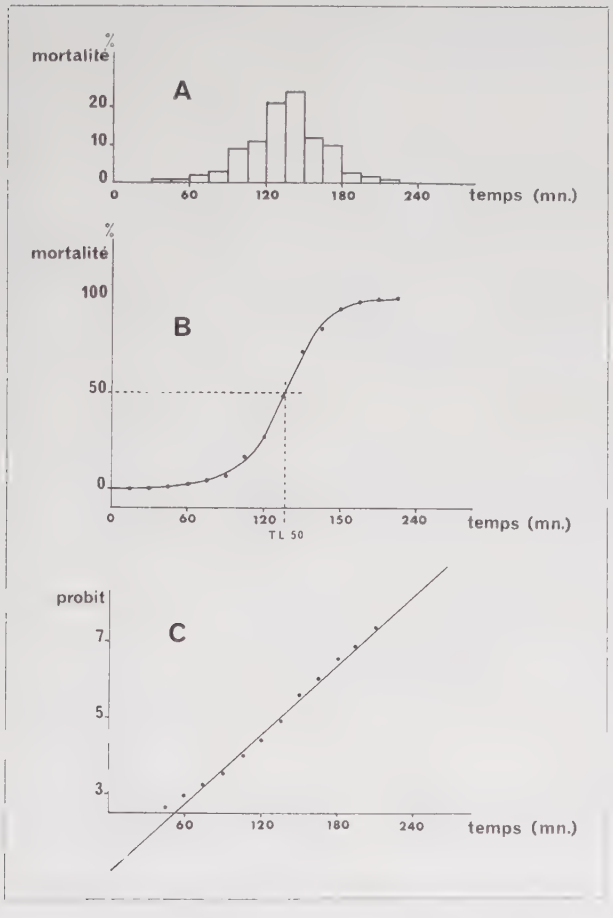

FIG. 7. — Représentations graphiques des données obtenues au cours d'un test de résistance au chlorure de sodium à 0,1 N (étude des temps de survie) :

A : histogramme représentant la distribution des temps de survie.

B : courbe en S de mortalité.

C : droite de probits.

Les trois modes de traitement des données (représentation graphique : fig. 7) fournissent les résultats suivants :

a) Temps moyen de survie : $T_s = 135{,}15 \pm 3{,}03$.

b) La courbe de mortalité en S, tracée à main levée, fournit pour le TL 50 une valeur voisine de 136 minutes.

c) Il est possible d'ajuster aux données expérimentales une droite de probits, passant par le point d'abscisse 134,20 et d'ordonnée 4,9854, et de pente 0,0305 (le test de conformité fournit $\chi^2 = 5{,}38$ pour 15 degrés de liberté). Il en résulte : TL 50 = 134,30 ± 1,55. Cette valeur est très proche du temps moyen de survie ; elle est déterminée avec une précision supérieure. Toutefois cette détermination suppose que la distribution des temps de survie est normale : or il n'en est pas toujours ainsi, de sorte que la méthode n'a pas une valeur générale.

D'autre part il s'est révélé indispensable d'effectuer simultanément des tests de résistance pour plusieurs populations. L'étude des temps de survie ne permet de mener à bien ce travail que pour 4 à 5 populations. C'est pourquoi cette méthode, utilisée au début de ce travail, a été par la suite abandonnée. Lorsqu'elle a été employée, les distributions n'étant pas toujours normales, le paramètre choisi pour caractériser la résistance est le temps moyen de survie.

2) ETUDE DES FRÉQUENCES DE SURVIVANTS.

On peut caractériser la résistance d'une population en considérant les fréquences de survivants après exposition des individus à diverses concentrations du toxique. Il est classique en toxicologie de déterminer la DL 50, ou dose léthale pour 50 % des individus.

En pratique, les individus utilisés pour pratiquer les tests de résistance doivent être placés isolément dans le milieu toxique : il arrive en effet que les survivants se

divisent, ce qui, si tous les individus étaient placés dans le même récipient, empêcherait de compter, les cadavres n'étant pas toujours visibles, les individus morts.

Il s'est révélé suffisant pour déterminer la fréquence de survie à une concentration donnée d'opérer sur un échantillon de 30 individus : en effet la variabilité des résultats d'une expérience à l'autre est largement supérieure à l'erreur d'échantillonnage.

Le temps de contact avec le toxique doit être assez long pour qu'une erreur de l'ordre d'une heure n'ait pas de répercussions sur la fréquence de survie observée, et d'autre part assez court pour que le milieu de culture ne se concentre pas par évaporation : 24 heures représentent un compromis acceptable entre ces deux exigences.

Donc pour déterminer la fréquence de survie au bout de 24 heures à une concentration déterminée, 30 individus sont placés isolément, sur lames à concavités, dans du milieu de culture additionné de toxique à cette concentration. Le lendemain à la même heure on compte le nombre x de concavités où se trouvent des survivants.

En effectuant simultanément le même travail pour toute une gamme de concentrations, il est possible de déterminer, en utilisant par exemple la méthode des probits, la DL 50. Toutefois, en raison de la nécessité d'effectuer des tests de résistance simultanément pour le plus grand nombre possible de populations, il a été jugé suffisant de déterminer pour chacune d'elles la fréquence de survie à une seule concentration, convenablement choisie (aussi voisine que possible de la moyenne des DL 50 des populations comparées) : cette fréquence est en effet caractéristique de la résistance.

Il s'agit cependant d'un paramètre qui se prête mal au calcul statistique car il se trouve entaché d'une erreur d'échantillonnage qui dépend de sa propre valeur. Cette difficulté est éludée par la transformation angulaire : si x est le nombre de survivants (sur 30 individus testés) on peut définir φ, exprimé en degrés, compris entre 0 et 90, par l'expression :

$$\sin^2 \varphi = \frac{x}{30}$$

On peut voir que dans ces conditions l'erreur-standard de φ, qui ne dépend que du nombre d'individus testés, est constante : dans ce cas, la variance due à l'échantillonnage est égale à 27.

Dans la majeure partie de ce travail, c'est ce paramètre φ qui a été choisi pour caractériser la résistance d'une population.

CHAPITRE III

ADAPTATION AU CHLORURE DE SODIUM ET AU CHLORURE DE CALCIUM

La possibilité d'adapter des Paramécies, ou d'autres Ciliés, à des solutions salines a été mise en évidence par de nombreux auteurs, notamment Massart (1889), Jollos (1921), Frisch (1939), Orlova (1941), Beale (1953). C'est pourquoi, dans le présent travail, l'étude descriptive de l'adaptation n'a été faite que de façon sommaire, le but essentiel recherché étant de connaître les caractéristiques des souches utilisées, avant et après adaptation.

Les résultats présentés ici concernent la souche 90 (variété 1) sur laquelle ont porté la plus grande partie des expériences qui seront relatées dans la suite du mémoire. Des résultats tout à fait analogues ont été obtenus sur les souches 16 et 60 (variété 1) et sur la souche 131 (variété 8).

I. — L'ADAPTATION AU CHLORURE DE SODIUM

1) Résistance naturelle au chlorure de sodium.

Les mesures de résistance au chlorure de sodium ayant été faites, suivant les cas, soit en étudiant la fréquence de survie, soit en étudiant le temps de survie dans les solutions salines, nous indiquerons les caractéristiques de la souche 90 selon ces deux types de techniques de mesures.

a) *Détermination de la DL* 50. Pour tenter de déterminer avec précision la dose telle que 50 % des individus soient tués après 24 heures de contact avec la solution toxique, chaque expérience a porté sur 100 individus : ceux-ci sont prélevés dans une culture sur salière âgée de 24 heures, initiée avec 50 individus issus d'une culture sur tube en phase de croissance exponentielle ; chaque individu est isolé, sur concavité, sur le milieu toxique et l'on compte au bout de 24 heures le nombre de survivants.

Malgré ces précautions, la détermination de la DL 50 est relativement imprécise en raison de la grande variabilité des résultats d'un jour à l'autre. Le tableau III rend compte des résultats de 32 tests de mortalité réalisés avec différentes concentrations en chlorure de sodium.

TABLEAU III. — **Détermination de la DL 50 de chlorure de sodium (chaque colonne correspond à des expériences effectuées le même jour)**

Concentration	Nombres de survivants								
0,03 N		100							
0,04 N		100	98						
0,05 N		94	89						
0,06 N	78	48	90	100	94	88	54	86	94
0,07 N	52	20	92	56	58	30	8	92	82
0,08 N	18	0	32	0	0	0	2	6	
0,09 N				0					

La DL 50 a été déterminée par la méthode des probits. L'hétérogénéité des résultats se traduit par l'impossibilité d'obtenir un ajustement convenable de la droite de probits aux données expérimentales ($\chi^2 = 563$ pour 30 degrés de liberté). Compte tenu de cette hétérogénéité on trouve que la DL 50 est comprise au seuil de signification de 5 % entre les valeurs :

0,067 N et 0,072 N

b) *Etude des temps de survie.* La détermination du TL 50 (temps au bout duquel 50 % des individus sont tués) ou du temps moyen de survie T_s dans une solution de concentration déterminée peut être faite suivant la méthode indiquée plus haut (chap. I, § IV, 1). Les résultats obtenus sont très variables d'un jour à l'autre ainsi qu'en témoigne le tableau IV, où sont portés les résultats de 6 expériences effectuées 6 jours consécutifs : la résistance est caractérisée par le temps moyen de survie de 100 individus dans une solution de chlorure de sodium à 0,1 N.

TABLEAU IV

N°	1	2	3	4	5	6
Ts	129,6 ± 3,7	145,8 ± 3,9	136,3 ± 4,6	94,6 ± 3,3	96,0 ± 2,5	140,3 ± 4,5

Une telle variabilité a été observée chez toutes les souches. Elle reste inexpliquée. Malgré toutes les précautions prises pour rendre les conditions d'expérience aussi constantes que possible, elle n'a pu être évitée. Il est remarquable que des variations comparables soient observées simultanément dans les diverses souches étudiées. Elles sont généralement liées à des variations de la vitesse de multiplication, mais ne semblent pas liées au cycle d'autogamie : celle-ci ne se produit pas, dans les cultures ordinaires, de façon synchrone.

Cette variabilité rend difficile la détermination d'une valeur caractéristique de la résistance d'une souche. Il n'a pas été observé de différences entre les différentes souches étudiées.

2) Réalisation de l'adaptation.

L'adaptation de *Paramecium aurelia* au chlorure de sodium peut être réalisée en deux étapes. Dans une première étape, les Paramécies sont transférées du milieu de culture normal à un milieu de culture additionné de chlorure de sodium à la concentration 0,04 N. Lors de ce transfert, la mortalité est très faible : de l'ordre de 1 %. Après un séjour de 48 heures dans cette solution, les Paramécies peuvent être repiquées sur un milieu de culture plus concentré : la concentration utilisée est 0,08 N. Ce second transfert n'est pas accompagné d'une mortalité immédiate plus élevée que le premier transfert.

Au bout de 3 jours dans le milieu à 0,08 N les Paramécies acquièrent une résistance élevée au chlorure de sodium ; elle ne varie pratiquement pas si le séjour est prolongé, ni si l'on effectue un troisième transfert, par exemple à la concentration 0,1 N. C'est pourquoi les populations adaptées au chlorure de sodium ont toujours été maintenues à la concentration 0,08 N.

L'étude de la cinétique de l'augmentation de résistance au chlorure de sodium lors des deux transferts successifs a été tentée. Les résultats obtenus sont extrêmement irréguliers : dans certaines expériences, la résistance atteint sa valeur définitive 12 heures environ après le transfert ; dans d'autres cas il apparaît au contraire une baisse de résistance, par rapport aux témoins, au cours des premières 24 heures. La seule constante est le niveau de résistance acquis à l'issue des processus d'adaptation.

3) Caractéristiques des souches adaptées.

a) *Résistance au chlorure de sodium.*

La détermination de la DL 50 des Paramécies acclimatées a été faite de la même manière que dans le cas des Paramécies normales. Le tableau V fournit les résultats d'une série d'expériences dont chacune porte sur 100 individus. Il s'agit de la lignée pure de la souche 90 dont la DL 50 avant adaptation a été indiquée précédem-

TABLEAU V. — **Détermination de la DL 50 de chlorure de sodium pour des Paramécies adaptées à ce sel.**

Concentration	Nombre de survivants			
0,08 N	88			
0,09 N	94			
0,10 N	96			
0,11 N	84			
0,12 N	80			
0,13 N	74			
0,14 N	88			
0,15 N	92	74	86	
0,16 N	36	72	88	
0,17 N	46	14	24	44
0,18 N	4			
0,19 N	0	0		

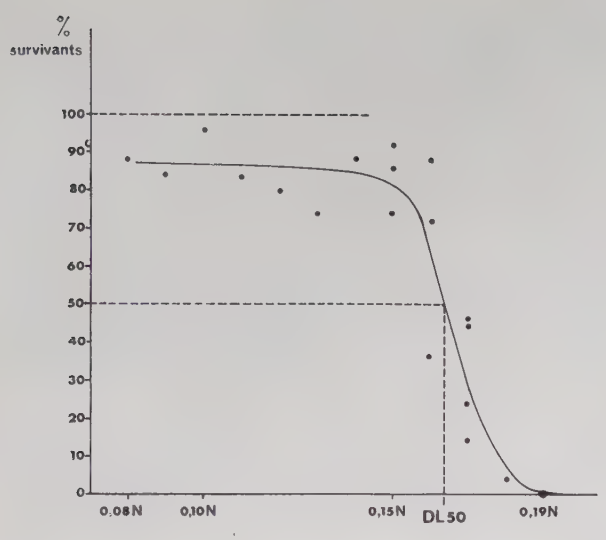

FIG. 8. — Représentation graphique de la mortalité, en fonction de la concentration en chlorure de sodium, des Paramécies de la souche 90 adaptées à ce sel.

ment (tableau III). Ces expériences ont été effectuées entre le 20e et 25e jour après la réalisation de l'adaptation.

Ces résultats sont traduits graphiquement par une courbe en S (fig. 8) qui présente la particularité de ne pas admettre, comme on aurait pu s'y attendre, la droite d'ordonnée 100 pour asymptote. Il se produit en effet, même à la concentration 0,08 N à laquelle vit la population, une certaine mortalité résiduelle, de l'ordre de 10 %. De ce fait, il est impossible d'appliquer aux données la transformation de probits. Il est néanmoins possible, à l'aide de la courbe en S tracée à main levée de déterminer la DL 50, qui est de l'ordre de 0,165 N.

Cette valeur est très largement supérieure à celle qui a été déterminée pour les Paramécies non acclimatées de la même lignée pure (0,069 N). L'adaptation a donc eu pour effet d'augmenter dans une large mesure la résistance des Paramécies au chlorure de sodium. Cette augmentation de résistance peut être mise en évidence par la mesure du temps moyen de survie dans une solution de chlorure de sodium à 0,20 N. Les résultats de ces mesures sont très hétérogènes mais traduisent bien l'augmentation de résistance : d'une expérience à l'autre le temps moyen de survie de 100 individus varie de 30 à 120 minutes ; il est en moyenne de 75 minutes environ. Dans le cas de Paramécies non adaptées, il ne dépasse jamais 12 minutes.

b) *Autres caractéristiques.*

Les Paramécies adaptées au chlorure de sodium ne diffèrent pratiquement pas des Paramécies normales par leur aspect morphologique. L'étude de leur résistance à divers sels autres que le chlorure de sodium montre un accroissement de leur résistance au thiocyanate de sodium, au nitrate de sodium, au chlorure de calcium, au bromure de magnésium et au chlorure de magnésium, et une diminution de la résistance au chlorure de potassium. L'interprétation de ces résultats est malaisée mais permet de supposer que l'adaptation au chlorure de sodium consiste pour une part en une adaptation à une pression osmotique élevée.

C'est sans doute précisément en liaison avec la pression osmotique de leur milieu de culture que les Paramécies adaptées au chlorure de sodium présentent une période de pulsation des vacuoles contractiles plus longue que les Paramécies normales (20 à 30 secondes, au lieu de 10 secondes environ).

Enfin la vitesse de multiplication des Paramécies adaptées au chlorure de sodium est inférieure à celle des Paramécies non adaptées ; elle est toujours inférieure à 4 divisions par jour, à 27°C, alors que celle des Paramécies normales atteint 4,5 à 5 divisions par jour, à la même température.

II. — L'ADAPTATION AU CHLORURE DE CALCIUM

1) RÉSISTANCE NATURELLE AU CHLORURE DE CALCIUM.

La lignée pure dont la résistance au chlorure de sodium a été décrite ci-dessus a été également étudiée pour la résistance au chlorure de calcium. La DL 50 a été déterminée dans des conditions expérimentales identiques à celles qui ont été décrites à propos de l'étude de la résistance au chlorure de sodium. On trouve, au seuil de signification de 5 % :

$$0{,}100 < \text{DL } 50 < 0{,}106$$

Des variations importantes sont observées d'une expérience à l'autre, ainsi qu'en témoigne le tableau VI, où sont portées les valeurs de la résistance, caractérisée par le paramètre φ, calculé sur 30 individus, pendant 12 journées consécutives, pour une population de la souche 90 entretenue par repiquages journaliers de 30 individus, sur salières (concentration de la solution utilisée pour les tests de résistance : 0,11 N).

Cette variabilité au cours du temps se traduit par une variance de φ égale à 291, alors que la variance d'échantillonnage n'est que de 27.

TABLEAU VI. — **Variations de la résistance d'une population au cours du temps.**

Jour	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
φ	26,6	39,2	0	45,0	18,4	0	48,8	26,6	28,9	33,2	18,4	0

TABLEAU VII. — **Cinétique de l'adaptation au chlorure de calcium.**

Temps	0	5 heures	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	6 jours	10 jours
A	0	5,7	— 15,3	15,8	26,2	28,1	54,7	30,0

2) Réalisation de l'adaptation.

Dans le cas du chlorure de calcium, l'adaptation peut être réalisée en une seule étape : repiquées sur milieu renfermant du chlorure de calcium à la concentration 0,04 N, des Paramécies « normales » ne présentent aucune mortalité au bout de 24 heures. L'étude cinétique de l'adaptation a été réalisée : l'amplitude de l'adaptation, A, peut être caractérisée par la différence de résistance entre les Paramécies adaptées et les Paramécies non adaptées maintenues dans des conditions aussi semblables que possible. Dans le tableau VII sont portés les résultats d'une expérience relative à l'étude de l'amplitude de l'adaptation pendant les 10 premiers jours du séjour des Paramécies sur la milieu à 0,04 N. Les résistances sont caractérisées par le paramètre φ mesuré sur 30 individus (concentration utilisée : 0,10 N). La figure 9 fournit la représentation graphique de cette cinétique.

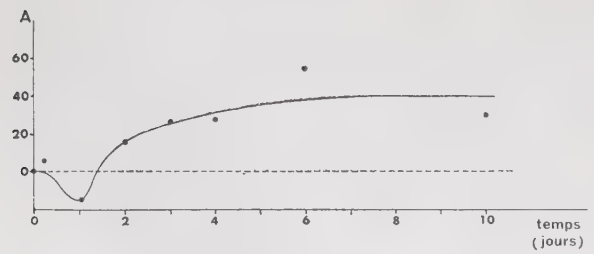

Fig. 9. — Cinétique d'adaptation au chlorure de calcium (souche 90).

La cinétique d'adaptation varie d'une expérience à l'autre, mais elle comporte toujours deux phases.

Une phase de *sensibilisation* dont la durée n'excède généralement pas 48 heures : la résistance de la population adaptée est alors inférieure à celle de la population témoin ($A < 0$). Cette phase est elle-même fréquemment précédée d'une phase très courte (quelques heures) d'augmentation rapide de la résistance, mais le fait n'est pas général.

Une phase *d'accroissement de la résistance :* la résistance de la population adaptée augmente progressivement pour atteindre un palier au bout de 5 jours environ. On peut considérer que le processus d'adaptation est alors terminé.

3) Caractéristiques des souches adaptées.

a) *Résistance au chlorure de calcium.*

La résistance au chlorure de calcium d'une population adaptée varie avec le temps dans des proportions importantes : la résistance décroît très lentement au cours du temps et se rapproche progressivement de celle des Paramécies non adaptées.

La population dont la cinétique d'adaptation a été décrite plus haut a été étudiée après un séjour de 5 ans dans le milieu additionné de chlorure de calcium à 0,04 N. Le paramètre A traduisant l'amplitude de l'adaptation a été déterminé quotidiennement pendant 19 jours. Les résultats sont consignés dans le tableau VIII.

D'après cette expérience, la moyenne de A n'est que de 12,6 ; elle est significativement différente de 0 au seuil de signification de 5 %, mais non au seuil de 1 %.

Cette lente diminution de la résistance des populations adaptées explique qu'il ait été impossible de conserver des populations adaptées à des concentrations plus élevées de chlorure de calcium : nous avons en effet tenté de réaliser des adaptations aux concentrations 0,05 N et 0,06 N. Chaque fois que l'expérience a été

TABLEAU VIII. — **Valeurs de A pour une population adaptée depuis 5 ans au chlorure de calcium.**

Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	4,5	— 10,3	39,2	— 9,7	34,3	16,5	21,9	8,0	8,2

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
33,2	— 8,1	41,8	21,7	26,8	14,8	0	— 13,6	45,0	— 34,8

tentée, elle a fourni les mêmes résultats : après une période de plusieurs semaines, voire plusieurs mois, durant laquelle la population se développe et acquiert une résistance supérieure à celle de la même populations adaptées explique qu'il ait été impossible de conserdécroît progressivement, une mortalité de plus en plus importante se produit, et finalement la population s'éteint.

Ce comportement est comparable à celui d'une population adaptée au chlorure de calcium à 0,04 N, mais dans ce cas la baisse de résistance se traduit par l'impossibilité pour la population de survivre dans le milieu sur lequel elle est cultivée.

Enfin il faut signaler que dans une population cultivée de façon permanente sur un milieu renfermant du chlorure de calcium à la concentration de 0,04 N se produit toujours une certaine mortalité : dans une culture en phase de croissance exponentielle, environ 15 % des individus sont voués à la mort. Ceci doit être rapproché des résultats relatifs à la résistance au chlorure de sodium des Paramécies adaptées au chlorure de sodium, où l'on constate une mortalité relativement importante dans leur milieu de culture.

b) *Autres caractéristiques.*

Les Paramécies adaptées au chlorure de calcium sont plus petites et plus actives que les Paramécies normales. Elles en diffèrent surtout par la vitesse de multiplication qui est bien plus faible : toujours inférieure à 2 divisions cellulaires par jour. La période de pulsation des vacuoles contractiles est en moyenne plus longue que celle des Paramécies normales, mais elle est extrêmement variable : de 7 secondes à plus d'une minute.

III. — CONCLUSIONS

Il est donc possible d'adapter *Paramecium aurelia* à des milieux de culture additionnés de chlorure de sodium ou de chlorure de calcium. Cette adaptation est particulièrement spectaculaire dans le cas du chlorure de sodium : la résistance à ce sel est plus que doublée si on la caractérise par la DL 50, qui passe de 0,069 N à 0,165 N.

L'augmentation de la résistance est nettement moins importante lors de l'adaptation au chlorure de calcium. Mais la principale caractéristique de cette adaptation est la lente variation de la résistance des populations adaptées : la résistance baisse très lentement au cours du temps. Il est permis dans ces conditions de se demander s'il est possible de perpétuer indéfiniment une population en présence de chlorure de calcium à 0,04 N : il semble que ce soit impossible aux concentrations supérieures. Au cours de ce travail, certaines populations ont été conservées 5 ans et sont encore à l'heure actuelle maintenues sur le milieu de culture à 0,04 N. Leur résistance est devenue très voisine de celle des populations non adaptées (tableau VIII).

Cette variation peut être rapprochée des variations de résistance aux températures élevées décrites par Poljansky (1958), lors de l'adaptation thermique de *Paramecium caudatum :* les lignées cultivées à température élevée présentent d'abord une augmentation de leur résistance, par rapport aux témoins ; cette résistance diminue au bout de 2 mois environ, puis augmente à nouveau vers le 4e mois, tout en restant toujours supérieure à celle des lignées témoins. Mais les résultats publiés concernent les variations de résistance constatées pendant 6 mois seulement, soit environ 250 à 300 générations. Dans nos expériences, des populations ont été maintenues pendant 5 ans sur milieu additionné de chlorure de calcium à 0,04 N, soit plus de 2 000 générations de multiplication végétative.

La baisse de la vitesse de multiplication en présence de chlorure de calcium a été observée également par Jollos (1921) ; alors que Orlova (1941), travaillant sur *Paramecium caudatum* et *P. multimicronucleatum* constate après transfert sur un milieu de culture à 0,01 N une baisse de vitesse de multiplication (elle tombe de 1,6 à 1,0 divisions par jour) suivie d'un retour à la vitesse normale après un délai variant de 10 jours à 2 mois.

Une autre caractéristique des adaptations étudiées est leur rapidité. Selon Beale (1953), de nombreuses souches de *P. aurelia* voient leur résistance au chlorure de sodium augmenter considérablement après un séjour de 48 heures dans une solution à 0,04 N. Nous avons obtenu des résultats analogues : toutefois il apparaît qu'un transfert dans une solution à 0,08 N fournit une nouvelle augmentation de la résistance. Les résultats obtenus lors de l'adaptation au chlorure de calcium sont comparables : le maximum de résistance est atteint après un séjour de 5 à 6 jours sur la solution à 0,04 N, ce qui est très court si l'on prend pour unité de temps la période de division cellulaire (la vitesse de multiplication lors de l'adaptation au chlorure de calcium est de l'ordre de 1 division par jour ; au contraire elle reste comprise entre 3 et 4 lors de l'adaptation au chlorure de sodium).

Cette rapidité suggère que l'adaptation est purement phénotypique. Au contraire, les lentes variations de résistance constatées chez les populations adaptées au chlorure de calcium pourraient traduire des modifications de leur structure génétique. C'est par l'étude de la *désadaptation* que des précisions pourront être apportées à cet aspect du problème.

CHAPITRE IV

LA DÉSADAPTATION ET LE PROBLÈME DES MODIFICATIONS DURABLES

Les modifications durables étudiées par Jollos (1921) à propos de l'adaptation au chlorure de calcium concernent non la résistance au chlorure de calcium, mais la vitesse de multiplication des Paramécies. La vitesse de multiplication est en effet inférieure à la normale dans les solutions de chlorure de calcium et le retour sur milieu normal d'une population adaptée provoque une augmentation de la vitesse de multiplication. Celle-ci peut toutefois se maintenir pendant un temps plus ou moins long à une valeur nettement inférieure à celle des populations non adaptées : il y a donc modification durable. Orlova (1941) a mis en évidence, chez *P. caudatum* et *P. multimicronucleatum,* des modifications durables concernant le caractère résistance au chlorure de calcium lui-même.

En outre, Beale (1953), étudiant l'adaptation au chlorure de sodium chez *P. aurelia,* n'a pu obtenir de modification durable concernant la résistance à ce sel.

Il était donc intéressant de savoir si ces différences dans l'aptitude aux modifications durables tenaient aux espèces (ou aux souches) utilisées par les différents chercheurs, ou si au contraire elles étaient liées à la nature du sel. Pour cela nous avons réalisé sur la même souche de *Paramecium aurelia* (souche 90) l'adaptation au chlorure de sodium et l'adaptation au chlorure de calcium, et nous avons recherché dans les deux cas si l'on obtenait ainsi des modifications durables.

I. — LA DESADAPTATION DES POPULATIONS ADAPTEES AU CHLORURE DE SODIUM

L'étude cinétique de la désadaptation des populations adaptées au chlorure de sodium a fourni des résultats très constants, en parfait accord avec ceux de Beale (1953).

Dans tous les cas, la chute de résistance est très brutale : 10 minutes après le transfert sur milieu dépourvu de chlorure de sodium, on enregistre déjà une baisse de résistance. Celle-ci décroît très rapidement, jusqu'à sa valeur définitive non significativement différente de celle des populations non adaptées. Le délai au bout duquel est atteinte cette valeur définitive varie, d'une expérience à l'autre, de 1 à 5 heures, c'est-à-dire qu'il ne dépasse pas la durée de l'intervalle séparant 2 divisions cellulaires.

La figure 10 représente la cinétique de la désadaptation pour une population de la souche 90 cultivée en présence de chlorure de sodium à 0,08 N depuis 10 jours. La résistance est caractérisée par le temps moyen de survie T_s en présence de chlorure de sodium à 0,2 N.

La figure 11 représente les résultats d'une expérience identique effectuée sur une population adaptée au chlorure de sodium à 0,08 N depuis 5 mois.

Ces résultats montrent clairement que l'adaptation au chlorure de sodium ne conduit pas, chez *P. aurelia,* souche 90, à une modification durable. La même conclusion a été obtenue pour d'autres souches : la souche 60 (variété 1), et la souche 131 (variété 8). Il est donc possible qu'elle soit générale pour *P. aurelia.*

II. — LA DESADAPTATION DES POPULATIONS ADAPTEES AU CHLORURE DE CALCIUM

Les études cinétiques de désadaptation de populations adaptées au chlorure de calcium ont fourni des résultats moins homogènes que ceux qui concernent la désadaptation de Paramécies adaptées au chlorure de sodium. Trois types de cinétique ont été observés :

1° *Désadaptation très rapide* analogue à celle des Paramécies adaptées au chlorure de sodium. Ce type de désadaptation se rencontre dans tous les cas chez les populations ayant subi l'adaptation depuis peu de temps. Mais il se présente aussi dans certains cas chez des populations adaptées depuis très longtemps. La courbe de la figure 12 fournit un exemple de ce type de désadaptation : elle est relative à une population de la souche 90 adaptée depuis 4 ans ; elle représente les variations, en fonction du temps écoulé depuis le transfert sur milieu normal, de *l'amplitude de l'adaptation* (A), paramètre défini au chapitre précédent (voir p. 22).

2° *Désadaptation lente :* dans certains cas la résistance

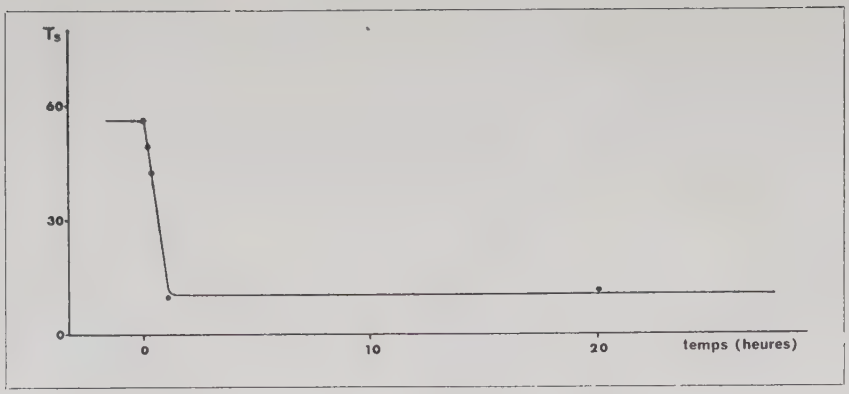

FIG 10. – Cinétique de désadaptation d'une population adaptée au chlorure de sodium depuis 10 jours.

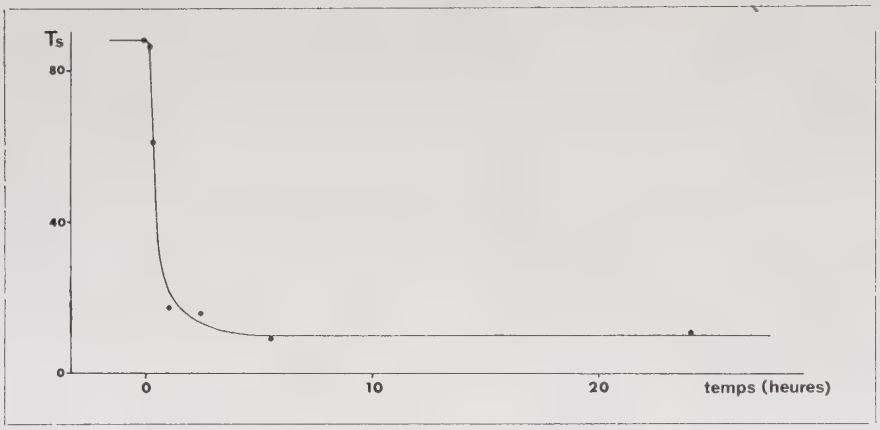

FIG. 11. — Cinétique de désadaptation d'une population adaptée au chlorure de sodium depuis 5 mois.

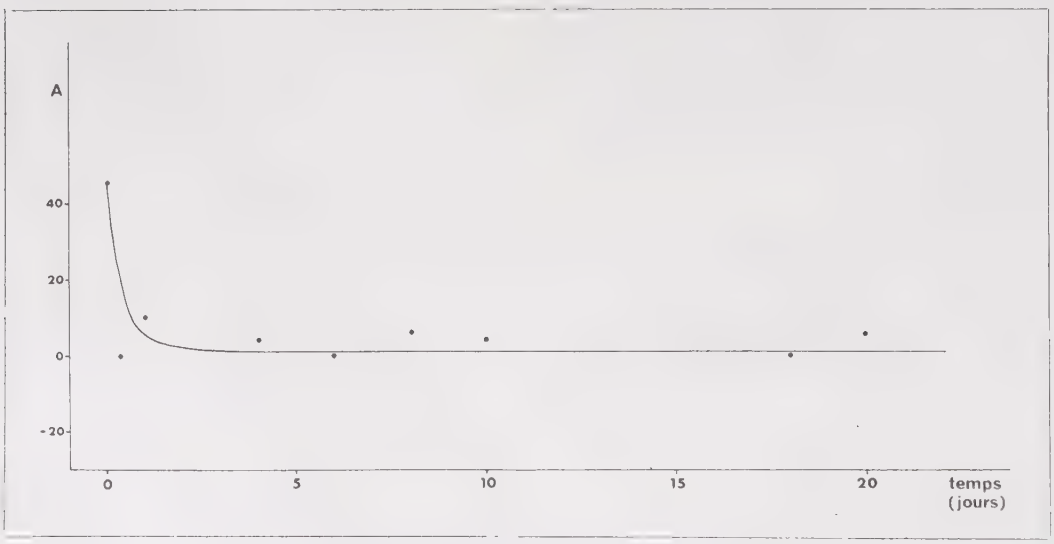

FIG. 12. — Cinétique de désadaptation d'une population adaptée au chlorure de calcium depuis 4 ans.

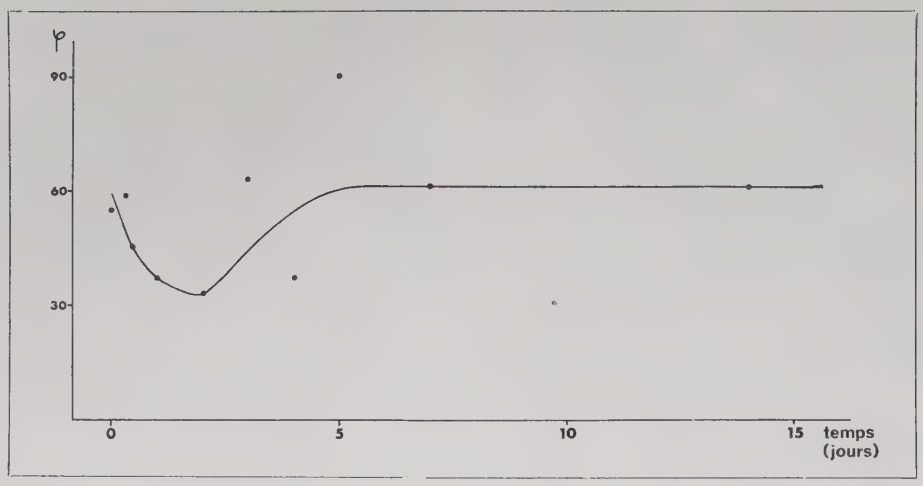

FIG. 13. — Cinétique de désadaptation d'une population adaptée au chlorure de calcium depuis 4 mois.

au chlorure de calcium baisse brutalement dès le transfert de la population adaptée sur milieu normal. Mais elle reprend au bout de 2 à 3 jours une valeur voisine de celle qu'elle avait avant la désadaptation, supérieure à celle des populations non adaptées. Le retour définitif à la résistance « normale » se produit ensuite au bout d'un temps très variable d'une expérience à l'autre.

La courbe de la fig. 13 illustre ce type de désadaptation. L'expérience a été ici accidentellement interrompue quatorze jours après le début de la désadaptation. Elle présente néanmoins un intérêt particulier, car il s'agit de la population de la souche 90 qui a été prise comme exemple pour illustrer le premier type de désadaptation. L'expérience dont il est question maintenant a été réalisée 4 mois après le début de l'adaptation.

3° *Sensibilisation.* La même population, adaptée au chlorure de calcium depuis 5 ans, a fourni un troisième type de cinétique de désadaptation, illustré par le graphique de la fig. 14. Sur ce graphique sont portés, en fonction du temps écoulé depuis le retour de la population au milieu de culture normal, les valeurs du paramètre A (amplitude de l'adaptation) pour la population désadaptée d'une part, une culture témoin d'autre part, maintenue sur milieu à 0,04 N. On voit que la valeur de A pour la population témoin est généralement positive, alors que pour la population désadaptée, elle reste longtemps négative et semble devenir nulle au bout d'une dizaine de jours. Il y a donc une sensibilisation qui persiste durant plusieurs dizaines de générations.

Il est remarquable que la même population ait fourni,

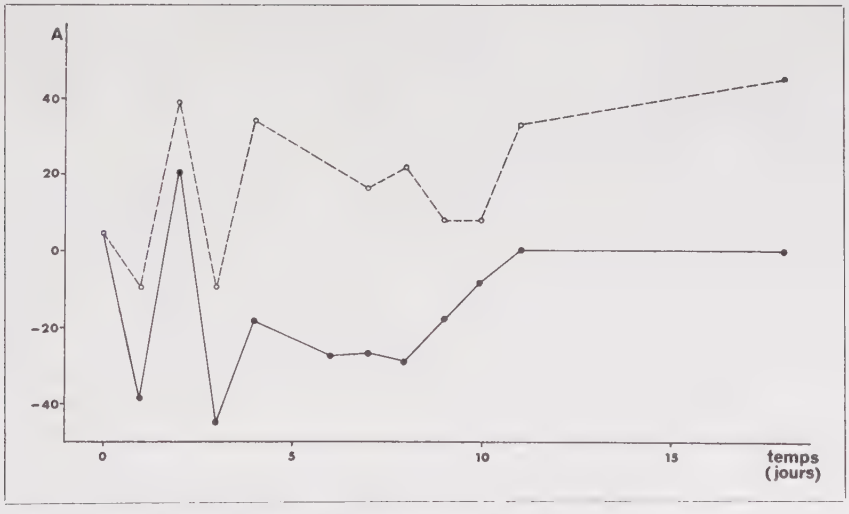

FIG. 14. — Cinétique de désadaptation d'une population adaptée au chlorure de calcium de 5 ans.
Traits pleins : population désadaptée.
Traits interrompus : témoin maintenu à 0,04 N.

à des âges différents il est vrai, les 3 types possibles de cinétique de désadaptation. Il est impossible, avec les données expérimentales dont nous disposons pour l'instant, d'émettre une hypothèse raisonnable sur les causes qui déterminent le type de désadaptation. La durée du séjour en présence de chlorure de calcium joue sans doute un rôle important : en effet la désadaptation est toujours très rapide chez les populations adaptées depuis peu ; au contraire la sensibilisation semble surtout fréquente chez les populations adaptées depuis plusieurs années.

Les deux derniers types de désadaptation correspondent bien à une modification durable. L'adaptation au chlorure de calcium conduit donc à des modifications durables chez *Paramecium aurelia,* souche 90 (var. 1).

III. — CONCLUSIONS

L'adaptation au chlorure de sodium et l'adaptation au chlorure de calcium d'une même souche de *Paramecium aurelia,* la souche 90, conduisent donc à des résultats différents :

L'adaptation au chlorure de sodium ne conduit jamais semble-t-il, à des modifications durables. Au contraire, l'adaptation au chlorure de calcium peut conduire, dans certaines conditions qu'il nous a été impossible de préciser, à des modifications durables, celles-ci concernant soit un accroissement de résistance soit une diminution de la résistance.

Ce second type de modifications durables est difficile à comprendre. On peut en effet supposer que dans une population cultivée en présence de chlorure de calcium où, nous l'avons vu (chap. III, § II), se produit en permanence une sélection se traduisant par une mortalité relativement importante, la pression de sélection favorise les individus les plus résistants. Si cette sélection est génétiquement efficace, ce qui suppose qu'elle s'exerce sur une variabilité génétique, et non sur une variabilité purement phénotypique, elle doit tendre à rendre la population adaptée héréditairement plus résistante que la même population non adaptée.

Cette remarque pose le problème du rôle de la sélection dans l'adaptation. Une sélection n'est possible que si elle s'exerce sur une population génétiquement hétérogène. Il importe donc de rechercher si une telle hétérogénéité est susceptible de s'introduire dans les populations sur lesquelles nous avons travaillé. Il convient pour cela d'étudier le déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium et, à titre de comparaison, celui de la résistance au chlorure de sodium.

CHAPITRE V

LE DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA RÉSISTANCE AU CHLORURE DE CALCIUM

I. — ACQUISITION D'UNE HETEROGENEITE GENETIQUE PAR UNE LIGNEE PURE

1) Principe des expériences.

L'existence d'une hétérogénéité génétique au sein d'une population doit se traduire par l'existence d'une corrélation entre les résistances d'individus apparentés, en particulier entre les résistances d'individus-frères.

Pratiquement, il est impossible de caractériser de façon quantitative la résistance d'un individu unique, mais on peut savoir s'il vit ou s'il meurt dans une solution toxique de concentration déterminée. Cette indication est suffisante pour obtenir des renseignements sur l'hétérogénéité génétique d'une population. En effet, si l'on expose des couples d'individus-frères à une solution de concentration telle qu'en un temps déterminé une fraction des individus soit tuée, on peut classer ces couples en 3 groupes : ceux dont les deux membres survivent, ceux dont un seul des deux membres survit, et ceux dont les deux membres sont tués. En l'absence de corrélation entre les résistances des individus-frères, si l'on désigne par p la fréquence globale de survie, les fréqunces respectives des groupes doivent être :

$$p^2 ; 2p (1 - p) ; (1 - p)^2$$

Si les fréquences sont différentes, elles peuvent être exprimées de la manière suivante :

$$p^2 + f p (1 - p) ; 2p (1 - p) (1 - f) ; q^2 + f p (1 - p)$$

Dans ces expressions, f, dont la valeur absolue est toujours inférieure à 1, est un coefficient de corrélation qui traduit de façon quantitative l'hétérogénéité de la population étudiée.

2) Protocole expérimental.

Un individu de la souche 90 isolé après autogamie donne naissance à une lignée pure qui est maintenue en croissance exponentielle grâce à des repiquages de 100 individus sur tubes à essais toutes les 48 heures.

Les *tests d'hétérogénéité* sont pratiqués à intervalles de temps réguliers : des individus sont isolés sur lames à concavités ; au bout de 6 heures environ la plupart d'entre eux ont effectué une division cellulaire ; pour 100 couples de frères, les deux individus sont séparés et mis en présence de milieu de culture additionné de chlorure de calcium à une concentration telle que 50 % environ des individus soient tués au bout de 24 heures. A l'issue de ce laps de temps, on compte les couples dont les deux membres ont survécu, ceux dont un seul membre a survécu, et ceux dont les deux membres ont été tués. De ces résultats sont déduites les valeurs de p et de f.

3) Résultats.

Dans une précédente publication (Génermont, 1961) ont été exposés les résultats d'une expérimentation portant sur une lignée pure. Les tests d'hétérogénéité avaient été pratiqués aux âges de 8, 15, 27 et 57 jours. Les deux premiers tests ont fourni pour f des valeurs (— 0,027 et 0,117) non significativement différentes de O ; les deux derniers, au contraire, fournissent des valeurs significativement positives au seuil de 1 % (0,292 et 0,299). Ces résultats permettent de conclure à l'acquisition par la lignée pure d'une hétérogénéité génétique au cours de son développement. Il est toutefois difficile de connaître, par ces seules données, la cinétique d'apparition de cette hétérogénéité : il est nécessaire pour cela d'effectuer des tests fréquents, en particulier lorsque la lignée est jeune.

C'est pourquoi deux autres expériences ont été faites ; leurs résultats sont consignés dans les tableaux IX et X, et traduits graphiquement par les fig. 15 et 16 :

La première de ces deux expériences (tableau IX et fig. 15) confirme les résultats acquis précédemment et montre que l'hétérogénéité génétique de la lignée s'accroît régulièrement tout au long de son développement. Il n'y a pas, semble-t-il, une phase particulière de la croissance au cours de laquelle apparaîtrait, soit totalement, soit

pour une part importante, l'hétérogénéité génétique de la lignée : on peut ajuster aux points de la fig. 15 une droite de régression dont la pente est significativement positive au seuil de 1 %. Il ne semble pas que, lorsque l'expérience a dû être arrêtée (la lignée avait alors atteint l'âge de 74 jours), le coefficient f ait atteint le maximum correspondant à la totalité de l'hétérogénéité génétique susceptible d'être acquise par la lignée.

TABLEAU IX. — **Evolution de l'hétérogénéité en fonction de l'âge (exprimé en jours) d'une lignée pure (1re expérience).**

Age	f	Age	f
3	0,218	47	0,304
5	0,143	53	0,523
11	0,181	61	0,376
18	0,206	67	0,216
33	0,269	74	0,452
39	0,259		

TABLEAU X. — **Evolution de l'hétérogénéité en fonction de l'âge (exprimé en jours) d'une lignée pure (2e expérience).**

Age	f	Age	f	Age	f
3	0,225	38	0,358	73	0,015
5	0,048	45	0,418	80	0,168
11	0,238	45	0,304	80	0,138
15	— 0,075	52	0,102	87	0,369
18	0,231	52	0,173	87	0,110
22	0,200	66	0,082	101	0,132
31	0,011	66	0,089	101	0,200
31	0,171	73	— 0,025	117	0,486

La seconde expérience a vu son déroulement entravé par un incident : une contamination, par une espèce bactérienne autre que *Aerobacter aerogenes*, survenant alors que la lignée était âgée de 50 jours. Ces bactéries étrangères exerçaient sur les Paramécies une action toxi-

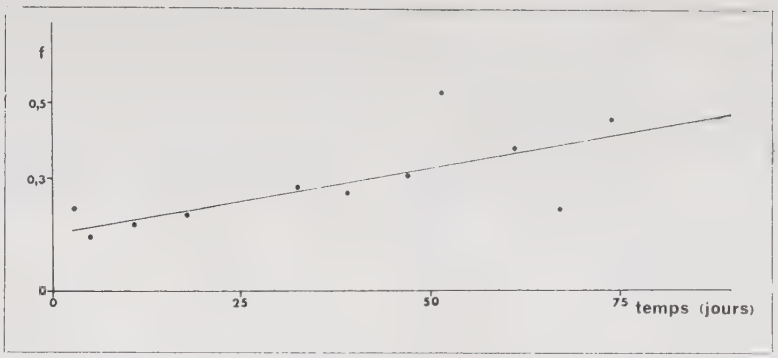

FIG. 15. — Evolution de l'hétérogénéité génétique d'une lignée pure en fonction de son âge (1re expérience).

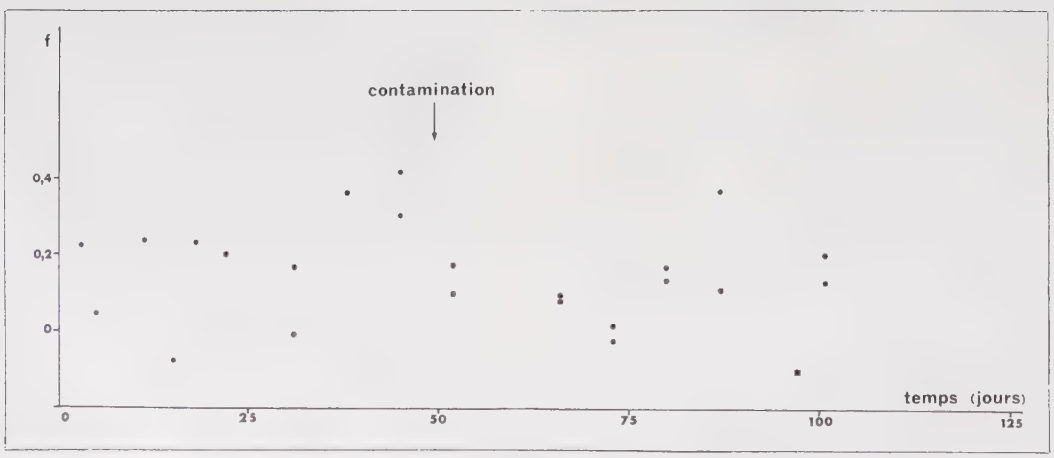

FIG. 16. — Evolution de l'hétérogénéité génétique d'une lignée pure en fonction de son âge (2e expérience).

que, qui se traduisait par une diminution de la résistance au chlorure de calcium, un ralentissement de la multiplication, une mortalité inhabituelle. L'expérience a néanmoins été poursuivie, après « lavage des Paramécies » : 100 individus ont été repiqués, individuellement, 7 fois de suite, sur du milieu de culture non contaminé. A la suite de ce travail, l'hétérogénéité génétique de la lignée avait considérablement diminué.

Il en résulte que la disposition des points de la fig. 16 traduit l'existence de deux phases dans l'histoire de la lignée : durant les 45 premiers jours on observe un accroissement de la valeur de f. Après 50 jours ce coefficient prend à nouveau des valeurs non significativement différentes de O pour s'accroître de façon régulière jusqu'à la fin de l'expérience. La perte d'hétérogénéité consécutive à la contamination peut être interprétée en admettant qu'il s'est fait dans la population de Paramécies une sélection en faveur des individus les plus résistants à l'action toxique des Bactéries et qu'il existe une corrélation entre cette résistance et la résistance au chlorure de calcium. Ce fait est intéressant à noter car il suggère l'existence de corrélations entre la résistance au chlorure de calcium et d'autres caractères héréditaires. L'étude génétique de la résistance au chlorure de calcium devra donc comporter une recherche de telles corrélations.

4) Conclusion.

Les résultats précédents conduisent à admettre que, au cours de l'histoire d'une lignée pure, le coefficient de corrélation entre les résistances d'individus-frères s'accroît avec le temps.

On peut se demander si ce coefficient f traduit réellement l'hétérogénéité génétique de la lignée. Ne trouverait-on pas, en l'absence de toute hétérogénéité génétique, une corrélation entre les individus-frères due à la seule variabilité phénotypique ? Le seul fait d'avoir cultivé isolément pendant quelques heures les parents des individus testés peut introduire une telle corrélation. Les valeurs de f calculées à partir des résultats expérimentaux surestiment donc sans doute la corrélation génétique entre frères.

Toutefois si dans ces valeurs entre pour une part une corrélation non génétique, ce seul effet ne peut expliquer l'accroissement de f avec l'âge de la lignée. Cet accroissement représente donc bien l'acquisition par la lignée d'une hétérogénéité génétique.

Le problème qui se pose maintenant est de savoir comment apparaît cette hétérogénéité. La première hypothèse qui vient à l'esprit consiste à penser qu'elle est due à des mutations de gènes contrôlant la résistance au chlorure de calcium. Pour tester cette hypothèse, il est nécessaire de rechercher si la résistance au chlorure de calcium est placée sous un contrôle génique.

II. — CONTROLE GENIQUE DE LA RESISTANCE AU CHLORURE DE CALCIUM

S'il existe un contrôle génique de la résistance au chlorure de calcium chez *Paramecium aurelia,* on doit pouvoir trouver des différences entre souches. Les croisements réalisés, notamment entre les souches 60 et 90, ont permis de mettre en évidence de telles différences.

1) Etude de croisements entre les souches 60 et 90.

Un croisement a été effectué entre deux lignées pures appartenant, l'une à la souche 60, l'autre à la souche 90. L'induction de l'autogamie dans la F_1 a fourni une F_2 dont la variabilité a été comparée à celle des souches parentales.

En pratique cette comparaison n'est valable que si les populations dont les résistances sont mesurées pour déterminer la variabilité « parentale » sont obtenues à la suite d'opérations similaires à celles qui fournissent les populations constituant la F_2. L'expérimentation a été conduite de la manière suivante (fig. 17) :

L'induction de l'autogamie, simultanément dans une lignée pure de la souche 60 et dans une lignée pure de la souche 90, fournit pour chacune de ces lignées pures des caryonides de type sexuel I et des caryonides de type II. Quatre de ces caryonides sont retenus pour la suite de l'expérimentation ; chacun est désigné par le numéro de la souche dont il est issu et par son type sexuel : 60 (I) ; 60 (II) ; 90 (I) ; 90 (II).

Quatre croisements sont possibles ; ils sont réalisés simultanément :

60 (I) x 60 (II)
90 (I) x 90 (II)
60 (I) x 90 (II)
90 (I) x 60 (II)

Dans la descendance de chacun des croisements est isolé un individu (après 30 générations environ de multiplication végétative), qui donne naissance à une lignée dans laquelle est induite l'autogamie. Les caryonides isolés dans les descendances 60 (I) x 60 (II) et 90 (I) x 90 (II) constituent les populations « parentales » ; les caryonides isolés dans les descendances 60 (I) x 90 (II) et 90 (I) x 60 (II) constituent la F_2.

Chacun de ces caryonides est maintenu en croissance exponentielle pendant 8 jours ; puis 100 individus sont repiqués sur salière et, après 24 heures, 30 individus sont prélevés pour le test de résistance au chlorure de calcium. La résistance est caractérisée par le paramètre φ ; la concentration utilisée pour les tests est 0,08 N.

TABLEAU XI

	Moyenne	Variance	Degrés de liberté
Parent 60	48,8	44,75	20
Parent 90	60,0	62,48	23
F_2 60 (I) × 90 (II) ..	36,6	111,66	14
F_2 90 (I) × 60 (II) ..	59,6	91,08	21

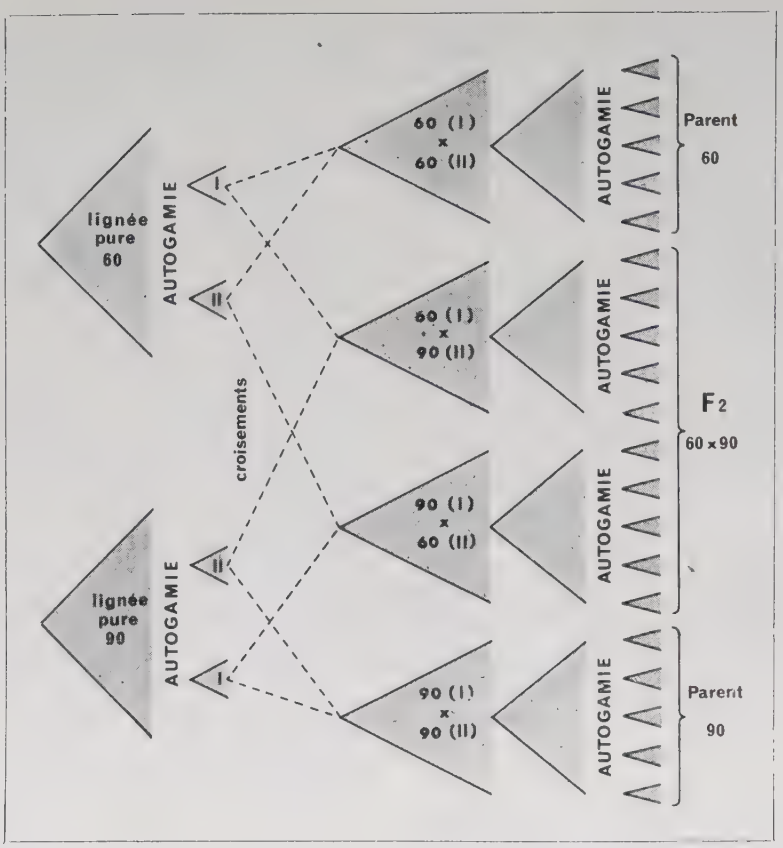

FIG. 17. — Schéma de l'expérience destinée à mettre en évidence un contrôle génique de la résistance au chlorure de calcium.

Dans le tableau XI sont portées les moyennes et variances des résistances mesurées pour les parents et les F_2.

Les deux variances parentales ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre ($F = 1{,}4$, d'où $P = 20\ \%$). Leur moyenne pondérée peut donc être considérée comme une estimée de la « variance parentale » : 54,23, pour 43 degrés de liberté.

D'autre part, les variances des F_2 60 (I) x 90 (II) et 90 (I) x 60 (II) ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre ($F = 1{,}23$, d'où $P > 20\ \%$). Leur moyenne pondérée fournit une estimée de la variance de la F_2 60 x 90, soit 99,31, pour 35 degrés de liberté.

La comparaison de ces estimées montre que la variance de la F_2 60 x 90 est significativement supérieure à la variance parentale, au seuil de signification de 5 % ($\bar{F} = 1{,}83$).

Ce résultat suggère que des différences de nature génétique existent entre les souches 60 et 90. Il ne permet pas toutefois d'affirmer qu'il s'agit d'un déterminisme polygénique. Il faut remarquer qu'il n'y avait à l'origine aucune différence entre les résistances au chlorure de calcium des souches parentales. Cela implique qu'elles diffèrent l'une de l'autre par au moins deux couples de gènes. S'il en était ainsi, on pourrait représenter de la manière suivante leurs constitutions géniques respectives : $\frac{A\ b}{A\ b}$ et $\frac{a\ B}{a\ B}$. La F_2 renfermerait alors quatre génotypes $\frac{A\ B}{A\ B}$; $\frac{A\ b}{A\ b}$; $\frac{a\ B}{a\ B}$; $\frac{a\ b}{a\ b}$. A ces 4 génotypes correspondraient au moins 3 niveaux de résistance et la distribution des résistances de la F_2 serait plurimodale. Pour tester cette hypothèse, il faudrait évidemment disposer de mesures de résistances très nombreuses et suffisamment précises, ce qui est pratiquement impossible, le nombre de tests réalisables dans un laps de temps suffisamment court pour qu'ils soient comparables étant nécessairement limité.

Quoi qu'il en soit, l'existence d'un contrôle génique de la résistance au chlorure de calcium fournit une base possible pour expliquer l'acquisition d'une hétérogénéité génétique par une lignée pure : on peut en effet supposer que ce sont des mutations géniques qui sont à l'origine de cette hétérogénéité. Si cette hypothèse est exacte, on doit pouvoir extraire d'une population qui était à l'origine une lignée pure, des sous-lignées présentant entre elles des différences géniques.

2) Etude de croisements entre lignées de la souche 90.

Différentes lignées pures ont été extraites de la souche 90 et croisées deux à deux, selon un protocole expérimental identique à celui décrit ci-dessus. En aucun cas il n'a été trouvé de différence significative entre la variance parentale et la variance de la F_2.

Ces résultats négatifs ne peuvent pas être tenus pour une preuve de l'absence d'hétérogénéité génique dans la souche 90, il peut en effet se trouver que, par malchance, les lignées croisées entre elles aient été identiques quant à leur structure génique. Mais on pouvait penser que des différences se manifesteraient entre une lignée « normale » et une lignée de la même souche venant de subir la désadaptation après un séjour de 17 mois en présence de chlorure de calcium à la concentration de 0,04 N. En effet, si l'hétérogénéité était d'origine mutationnelle, le toxique agissant comme facteur sélectif, la constitution génique des Paramécies désadaptées devrait être différente de celle des Paramécies normales de la même souche.

Les résultats du croisement ainsi réalisé, et analysé de la même manière que le croisement 60 x 90, sont les suivantes :

Variance parentale : 236,7, estimée avec 29 degrés de liberté.
Variance de la F_2 : 235,5, estimée avec 45 degrés de liberté.

Ces deux valeurs ne sont manifestement pas significativement différentes. Il est donc peu vraisemblable que l'hétérogénéité génétique acquise par les lignées pures ait une origine mutationnelle. Il convient donc de rechercher une autre hypothèse susceptible de rendre compte des faits observés.

III. — CONTROLE EXTRACHROMOSOMIQUE DE LA RESISTANCE AU CHLORURE DE CALCIUM

L'interprétation complète des résultats des croisements 60 x 90 est impossible si l'on envisage un déterminisme exclusivement génique de la résistance au chlorure de calcium. En effet, si l'on compare (données présentées dans le tableau XI) les moyennes des deux F_2 60 x 90, on constate qu'elles sont significativement différentes au seuil de signification 1 %. Or, elles sont issues de F_1 ayant rigoureusement la même constitution génique : dans l'hypothèse d'un déterminisme exclusivement génique, ces moyennes devraient être égales.

Au cours de l'expérience, on avait également mesuré les résistances des F_1 : les résultats avaient été les suivants :

60 (I) x 90 (II) : 35,3
90 (I) x 60 (II) : 68,6

Ces valeurs sont très proches des moyennes des F_2 (36,6 et 59,6). Ces résultats suggèrent que des différences héréditaires puissent exister entre des populations de même constitution génique. Ces faits rappellent ce qu'on observe à propos du déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe A (déterminisme « caryonidal »). Pour examiner l'éventualité d'un déterminisme de ce type on a analysé les descendances de croisements réalisés entre caryonides appartenant à la même lignée pure.

1) Protocole expérimental (fig. 18).

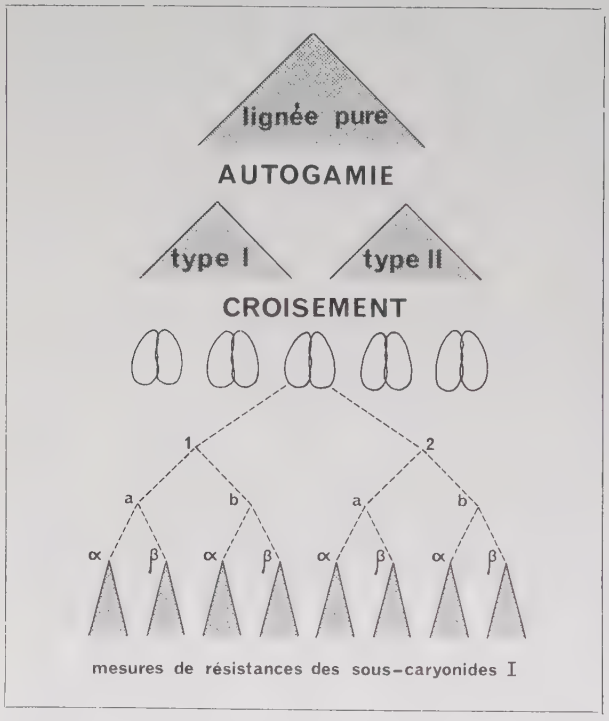

Fig. 18. — Schéma de l'expérience destinée à l'analyse du déterminisme extrachromosomique de la résistance au chlorure de calcium.

Un individu de la souche 90 est isolé après autogamie. Dans la lignée pure qui en est issue par multiplication végétative, l'induction de l'autogamie permet d'isoler des caryonides qui présentent tous la même constitution génique et sont, de plus, homozygotes pour tous leurs gènes. Etant donné le déterminisme génétique du type sexuel dans la variété 1 de *Paramecium aurelia,* ces caryonides appartiennent, les uns au type I, les autres au type II. Un croisement est réalisé entre deux caryonides de types complémentaires, choisis en fonction du seul critère de leur réactivité sexuelle.

Des couples de conjugants sont isolés, puis les ex-conjugants sont séparés, ainsi que les produits des deux premières divisions cellulaires survenant après la séparation des partenaires. Ces individus donnent naissance, par multiplication végétative, aux sous-caryonides I. Dans l'une des expériences l'analyse a été poussée plus loin et a porté sur les sous-caryonides III, ce qui a nécessité d'isoler les produits des 3e et 4e divisions des ex-conjugants (*).

Après un temps de croissance correspondant à 8 à 9 divisions cellulaires (sur lames à concavités), les résis-

(*) Pour la nomenclature des différentes populations constituant la descendance d'un couple de conjugants, voir Chap. I, fig. 3

TABLEAU XII. — **Résultats de l'expérience n° 1.**

Synclone I			Tests 0,06 N		Tests 0,07 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	30	90,0	27	71,6
		β	28	75,0	22	58,9
	b	α	20	54,7	11	37,3
		β	28	75,0	29	79,5
2	a	α	27	71,6	26	68,6
		β	14	43,1	11	37,3
	b	α	3	18,4	0	0
		β	15	45,0	8	31,1

Synclone II			Tests 0,06 N		Tests 0,07 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	24	63,4	24	63,4
		β	27	71,6	26	68,6
	b	α	8	31,1	10	35,3
		β	29	79,5	29	79,5
2	a	α	8	31,1	3	18,4
		β	25	65,9	26	68,6
	b	α	27	71,6	28	75,0
		β	30	90,0	29	79,5

Synclone III			Tests 0,06 N		Tests 0,07 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	4	21,4	4	21,4
		β	0	0	1	10,5
	b	α	28	75,0	30	90,0
		β	29	79,5	28	75,0
2	a	α	26	68,6	28	75,0
		β	5	24,1	16	46,9
	b	α	28	75,0	28	75,0
		β	25	65,9	30	90,0

Synclone IV			Tests 0,06 N		Tests 0,07 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	4	21,4	0	0
		β	16	46,9	3	18,4
	b	α	30	90,0	24	63,4
		β	26	68,6	27	71,6
2	a	α	29	79,5	29	79,5
		β	30	90,0	29	79,5
	b	α	17	48,8	24	63,4
		β	7	28,9	2	15,0

Synclone V			Tests 0,06 N		Tests 0,07 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	11	37,3	5	24,1
		β	20	54,7	13	41,2
	b	α	10	35,3	11	37,3
		β	29	79,5	29	79,5
2	a	α	30	90,0	29	79,5
		β	29	79,5	27	71,6
	b	α	20	54,7	17	48,8
		β	13	41,2	17	48,8

tances de ces sous-caryonides sont testées. Dans la mesure du possible, deux tests de résistance sont effectués pour chaque sous-caryonide, avec des concentrations en chlorure de calcium différentes. Suivant les cas, on a utilisé 0,06 N, 0,07 N ou 0,08 N.

2) Résultats.

Trois expériences indépendantes ont été effectuées. L'expérience n° 1 porte sur 5 synclones ; les résistances des sous-caryonides I sont testées aux concentrations 0,06 N et 0,07 N. L'expérience n° 2 porte sur 4 synclones ; les résistances des sous-caryonides I sont testées aux concentrations 0,07 N et 0,08 N. Enfin, l'expérience n° 3 porte sur 2 synclones ; les résistances des sous-caryonides III ont été testées aux concentrations 0,07 N et 0,08 N pour l'un des synclones, 0,08 N seulement pour l'autre synclone. Les résultats de ces expériences sont consignés respectivement dans les tableaux XII, XIII et XIV.

Les résultats de chaque expérience peuvent être interprétés à l'aide d'une analyse de variance. Dans le cas des expériences n^{os} 1 et 2 on peut calculer :

— une variance inter-synclones ;
— une variance intra-synclone inter-clones ;
— une variance intra-clone inter-caryonides ;
— une variance intra-caryonide inter-souscaryonides I.

Et dans le cas de l'expérience n° 3 :

— une variance inter-clones ;
— une variance intra-clone intercaryonides ;
— une variance intra-caryonide inter-souscaryonides I ;
— une variance intra-souscaryonide I inter-souscaryonides II ;

TABLEAU XIII. — **Résultats de l'expérience n° 2.**

Synclone I			Tests 0,07 N		Tests 0,08 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	20	54,7	18	50,8
		β	29	79,5	29	79,5
	b	α	22	58,9	9	33,2
		β	23	61,1	5	24,1
2	a	α	26	68,6	26	68,6
		β	30	90,0	29	79,5
	b	α	30	90,0	29	79,5
		β	29	79,5	27	71,6

Synclone II			Tests 0,07 N		Tests 0,08 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	8	31,1	0	0
		β	29	79,5	26	68,6
	b	α	30	90,0	27	71,6
		β	29	79,5	30	90,0
2	a	α	29	79,5	29	79,5
		β	22	58,9	19	52,7
	b	α	29	79,5	28	75,0
		β	1	10,5	0	0

Synclone III			Tests 0,07 N		Tests 0,08 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	27	71,6	27	71,6
		β	29	79,5	29	79,5
	b	α	29	79,5	15	45,0
		β	23	61,1	4	21,4
2	a	α	30	90,0	28	75,0
		β	29	79,5	23	61,1
	b	α	11	37,3	4	21,4
		β	2	15,0	0	0

			Tests 0,07 N		Tests 0,08 N	
			x	φ	x	φ
1	a	α	10	35,3	0	0
		β	27	71,6	14	43,1
	b	α	22	58,9	17	48,8
		β	12	39,2	6	26,6
2	a	α	28	75,0	29	79,5
		β	27	71,6	29	79,5
	b	α	30	90,0	30	90,0
		β	25	65,9	28	75,0

— une variance intra-souscaryonide II inter-souscaryonides III.

Ces calculs ont été exposés en détail dans une précédente publication (Génermont, 1961). Les variances sur lesquelles portent les comparaisons sont estimées tantôt à partir des données des 3 expériences tantôt à partir de celles des 2 premières expériences, tantôt à partir de celles de l'expérience n° 3.

D'après les résultats des expériences n^{os} 1 et 2, la variance inter-synclones (227, pour 7 degrés de liberté) est significativement inférieure, au seuil de 5 %, à la variance intra-synclone interclones (877, pour 9 degrés de liberté). Ceci indique l'existence de différences systématiques entre les deux clones d'un même synclone. L'interprétation la plus simple consiste à admettre que les populations parentales sont génétiquement homogènes, mais différentes l'une de l'autre, la différence étant à déterminisme cytoplasmique (*).

D'autre part, toujours selon les données des expériences n^{os} 1 et 2, les variances intra-synclones inter-clones (877, pour 9 degrés de liberté) et intra-clone inter-caryonides (1163, pour 18 degrés de liberté) ne sont pas significativement différentes. C'est dire qu'il y a autant de différence, en moyenne, entre les résistances des deux caryonides d'un même clone, qu'entre celles des deux clones d'un même synclone. Ce résultat peut sembler en contradiction avec l'hypothèse d'un déterminisme cytoplasmique de la résistance au chlorure de calcium : on aurait pu croire en effet que, puisque les deux caryonides du même clone ont même cytoplasme, leurs résistances seraient entre elles en corrélation positive ; or il n'en est rien. Pour interpréter les résultats obtenus, il faut admettre que le cytoplasme détermine la résistance moyenne du clone et que tout se passe ensuite comme s'il y avait compétition entre les 2 caryonides.

La suite de l'analyse montre que, d'après les données des 3 expériences, la variance intra-clone inter-caryonides (1070, pour 22 degrés de liberté) est significativement supérieure, au seuil de 1 % à la variance intra-caryonide inter-souscaryonides I (365, pour 44 degrés de liberté). Ce résultat traduit l'existence d'une corrélation positive entre les résistances des deux souscaryonides I du même caryonide. Cela conduit à admettre l'existence de déter-

(*) Nanney, Nagel et Touchberry (1964) affirment que cette interprétation ne s'applique qu'à l'expérience n° 2. Pourtant, dans le cas de l'expérience n° 1, la variance inter-synclones est de 227 pour 4 degrés de liberté alors que la variance intra-synclone interclones est 659 pour 5 degrés de liberté. Ces deux variances ne sont pas significativement différentes ($10\ \% < P < 20\ \%$), mais le sens de la différence est conforme à l'hypothèse émise.

TABLEAU XIV. — **Résultats de l'expérience n° 3.**

Synclone I					Tests 0,07 N		Tests 0,08 N	
					x	φ	x	φ
1	a	α	1	1'	19	52,7	23	61,1
				1''	22	58,9	13	41,2
			2	2'	26	68,6	12	39,2
				2''	17	48,8	4	21,4
		β	1	1'	19	52,7	10	35,3
				1''	26	68,6	21	56,8
			2	2'	27	71,6	17	48,8
				2''	24	63,4	21	56,8
	b	α	1	1'	9	33,2	5	24,1
				1''	15	45,0	13	41,2
			2	2'	5	24,1	0	0
				2''	21	56,8	9	33,2
		β	1	1'	17	48,8	14	43,1
				1''	18	50,8	17	48,8
			2	2'	16	46,9	10	35,3
				2''	18	50,8	8	31,1
2	a	α	1	1'	22	58,9	16	46,9
				1''	14	43,1	16	46,9
			2	2'	27	71,6	16	46,9
				2''	21	56,8	16	46,9
		β	1	1'	24	63,4	18	50,8
				1''	27	71,6	22	58,9
			2	2'	29	79,5	25	65,9
				2''	28	75,0	24	63,4
	b	α	1	1'	28	75,0	26	68,6
				1''	25	65,9	24	63,4
			2	2'	28	75,0	22	58,9
				2''	25	65,9	25	65,9
		β	1	1'	24	63,4	23	61,1
				1''	25	65,9	28	75,0
			2	2'	23	61,1	15	45,0
				2''	26	68,6	21	56,8

Synclone II					Test 0,08 N	
					x	φ
1	a	α	1	1'	11	37,3
				1''	17	48,8
			2	2'	25	65,9
				2''	10	35,3
		β	1	1'	23	61,1
				1''	26	68,6
			2	2'	26	68,6
				2''	28	75,0
	b	α	1	1'	25	65,9
				1''	27	71,6
			2	2'	26	68,6
				2''	23	61,1
		β	1	1'	23	61,1
				1''	18	50,8
			2	2'	22	58,9
				2''	18	50,8
2	a	α	1	1'	23	61,1
				1''	25	65,9
			2	2'	27	71,6
				2''	28	75,0
		β	1	1'	24	63,4
				1''	28	75,0
			2	2'	27	71,6
				2''	29	79,5
	b	α	1	1'	20	54,7
				1''	29	79,5
			2	2'	14	43,1
				2''	21	56,8
		β	1	1'	15	45,0
				1''	5	24,1
			2	2'	10	35,3
				2''	19	52,7

minants liés au macronucleus dans le contrôle de la résistance au chlorure de calcium.

Enfin, les résultats de l'expérience n° 3 fournissent les valeurs des variances intra-souscaryonides I inter-sous caryonides II et intra-souscaryonide II inter-souscaryonides III (respectivement 94 pour 16 degrés de liberté et 97 pour 32 degrés de liberté), qui ne sont pas significativement différentes et permettent d'estimer, par leur moyenne pondérée (96, pour 48 degrés de liberté) la variance intra-souscaryonide I. Celle-ci est significativement inférieure à la variance intra-caryonide inter-sous-caryonides I (277, pour 8 degrés de liberté) au seuil de

signification de 1 %. Un caryonide n'est donc pas une population homogène : il est moins homogène qu'un souscaryonide I. Mais un souscaryonide I n'est pas plus hétérogène qu'un souscaryonide II, à la précision de l'expérience. Ceci suggère que le macronucleus qui vient de se former à partir d'un micronucleus n'est pas homogène, autrement dit n'est pas encore totalement différencié lorsqu'il subit sa première division : les deux macronuclei qui en sont issus ne sont donc pas nécessairement identiques ; mais, à leur niveau, l'expérience décrite ne permet pas de détecter d'hétérogénéité.

Il reste à expliquer que les deux populations croisées soient différentes alors qu'elles sont issues d'un même individu homozygote pour tous ses gènes : elles ont donc le même génome et des cytoplasmes dérivant d'un même cytoplasme originel. Isolées après autogamie elles appartiennent à des caryonides différents. Il est logique de penser que, lors de l'autogamie comme lors de la conjugaison, des différences peuvent apparaître entre caryonides et entre souscaryonides I. Ce sont ces différences qui sont ensuite, lors de la conjugaison, transmise par voie cytoplasmique.

Malgré les apparences, le rôle du cytoplasme dans le contrôle génétique extrachromosomique de la résistance au chlorure de calcium semble donc assez réduit : ce contrôle ne mettrait pas en jeu, à proprement parler, de déterminants cytoplasmiques. Le cytoplasme ne serait qu'un lieu de transit pour l'information issue du macronucleus dégénérescent et reprise par les macronuclei nouvellement formés. Une telle hypothèse est d'autant plus plausible que c'est exactement ce rôle que joue le cytoplasme dans le déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe B de *Paramecium aurelia.*

Il a été vérifié expérimentalement que l'intervention de l'autogamie dans une lignée provoque l'apparition d'une hétérogénéité dans cette lignée, c'est-à-dire un accroissement de sa variabilité : dans une lignée pure de la souche 90, 30 caryonides sont isolés après autogamie. Chacun d'eux n'est en fait représenté que par la descendance d'un individu isolé 3 ou 4 divisions après l'autogamie : de la sorte se trouve éliminée la variabilité intra-caryonide due aux différences qui pourraient apparaître entre les sous-caryonides I. Après 3 jours de croissance, on isole dans une de ces populations 30 individus qui donnent naissance à autant de sous-clones. Puis on teste les résistances des 30 caryonides d'une part, des 30 sous-clones appartenant au même caryonide d'autre part.

Les calculs de variances fournissent les résultats suivants :

— variance inter-caryonides : 277,1 pour 29 degrés de liberté ;

— variance intra-caryonide : 128,8 pour 29 degrés de liberté.

La variance inter-caryonides est supérieure à la variance intra-caryonide. La différence est significative au seuil de signification de 5 %.

Ces résultats sont conformes à l'hypothèse émise. Ils ont été retrouvés dans une expérience faite sur la souche 60. On peut donc admettre que les différences mises en évidence par les expériences de croisements, et transmises par hérédité « cytoplasmique » ont été acquises lors de l'autogamie précédente et sont en fait sous contrôle macronucléaire.

IV. — CONCLUSIONS

Malgré l'existence d'un déterminisme génique de la résistance au chlorure de calcium, il ne semble pas que l'hétérogénéité génétique acquise par une lignée pure au cours de son développement puisse être considérée comme due à des mutations géniques. Les résultats obtenus conduisent même à penser que les taux de mutation des gènes contrôlant la résistance au chlorure de calcium sont particulièrement bas, puisque la sélection résultant d'un séjour d'une population pendant 17 mois (soit près de 1.000 divisions cellulaires) dans un milieu de culture renfermant du chlorure de calcium à la concentration de 0,04 N n'a aucun effet sur la structure génique de la population.

Au contraire, le mécanisme de contrôle extra-chromosomique de la résistance au chlorure de calcium fournit les éléments d'une interprétation satisfaisante de l'hétérogénéité génétique acquise par une lignée pure : elle y apparaît dès que se produit dans la lignée une autogamie, ce qui arrive inévitablement, dans la variété I, au bout de 40 à 70 divisions cellulaires.

S'il en est ainsi, on doit s'attendre à voir apparaître plus rapidement une hétérogénéité génétique dans une souche à cycle d'autogamie court que dans une souche à cycle d'autogamie long. Une expérience effectuée sur la souche 131, qui appartient à la variété 8, où le cycle d'autogamie n'est que de 15 divisions cellulaires environ, a semblé en accord avec l'hypothèse, mais la dispersion des résultats est trop forte pour que l'on puisse conclure avec certitude sans un très grand nombre de mesures. Une autre expérience effectuée sur une souche de *Paramecium caudatum,* espèce chez laquelle l'autogamie n'existe pas, sinon à titre tout à fait exceptionnel [Vivier (1960)], n'a pas permis de détecter d'hétérogénéité plus de 60 jours après l'isolement de la lignée, mais là encore il n'a pu être pratiqué qu'un petit nombre de tests d'hétérogénéité, de sorte que ce résultat ne peut être considéré comme définitivement acquis.

L'existence d'une hétérogénéité génétique dans une lignée pure fournit aussi des éléments pour la compréhension des modifications durables. En effet cette hétérogénéité peut donner prise à une sélection : cette possibilité sera examinée dans la suite de ce travail et l'ensemble du problème des modifications durables sera discuté dans la conclusion générale du mémoire.

Enfin il serait intéressant de comparer le mécanisme extrachromosomique mis en évidence ici aux autres mécanismes extra-chromosomiques connus chez les Ciliés (en particulier les déterminismes génétiques du type sexuel chez *Paramecium aurelia* et *Tetrahymena pyriformis,* et du type antigénique chez *T. pyriformis.* Cette discussion sera faite également dans la conclusion générale et tiendra compte des résultats acquis au cours de l'étude de la résistance au chlorure de sodium et de vitesse de multiplication.

CHAPITRE VI

DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE EXTRACHROMOSOMIQUE DE LA RÉSISTANCE AU CHLORURE DE SODIUM

Le déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium chez *Paramecium aurelia* met en jeu un mécanisme extrachromosomique. Il a semblé intéressant de rechercher s'il en est de même dans le cas de la résistance au chlorure de sodium. L'expérimentation réalisée est du même type que celle qui a été décrite au chapitre précédent. Elle en diffère toutefois par des détails techniques.

Dans une première partie de l'expérimentaiton, la résistance d'une population est caractérisée par le temps moyen de survie de 100 individus dans un milieu de culture additionné de chlorure de sodium à la concentration de 0,12 N. Dans la seconde partie, on a utilisé la transformée φ du pourcentage de survivants au bout de 24 heures dans un milieu de culture additionné de chlorure de sodium à la concentration 0,07 N ou 0,08 N.

I. — PREMIERE PARTIE DE L'EXPERIMENTATION : ROLE DU CYTOPLASME

Un croisement est réalisé entre deux caryonides appartenant à la même lignée pure de la souche 90. Sept couples de conjugants sont isolés et l'on sépare les exconjugants, puis les produits de leur première division cellulaire : on obtient ainsi, pour chacun des 7 synclones, des cultures des 4 caryonides 1a, 1b, 2a, 2b.

Chacun des 28 caryonides est maintenu en croissance jusqu'à ce que s'y soient produites 8 à 9 divisions cellulaires. Dans ces populations, 100 individus sont prélevés et utilisés pour les tests de résistance. Soit T_S leur temps moyen de survie dans le milieu de culture additionné de chlorure de sodium à la concentration 0,12 N.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XIV. Ils peuvent être interprétés par une analyse de variance. La variance globale vaut 307,5 (27 degrés de liberté). Elle peut être décomposée en 3 éléments :

— variance inter-synclones : 372,9 (6 degrés de liberté) ;
— variance intra-synclone inter-clone : 743 (7 degrés de liberté) ;
— variance intra-clone : 61,7 (14 degrés de liberté).

Les deux premières variances ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre ($P \simeq 20\ \%$). Au contraire, la variance intra-synclone inter-clones est significativement supérieure, au seuil de 0,1 %, à la variance intra-clone inter-caryonides. Il y a donc corrélation entre les deux caryonides du même clone, ce qui revient à dire que le déterminisme génétique de la résistance au chlorure de sodium met en jeu des facteurs cytoplasmiques.

Notons que l'on pourrait s'attendre, dans ces conditions, à trouver une variance inter-synclones inférieure à la variance intra-synclone inter-clones. La différence observée est bien dans le sens prévu, mais elle n'est pas significative. Il est possible que le nombre de synclones étudiés soit insuffisant pour mettre en évidence la différence, mais il faut remarquer que la variance inter-synclones est largement supérieure à la variance intra-clone inter-caryonides. Ceci semble montrer qu'il peut y avoir plus de différences entre les individus constituant un même caryonide âgé (les populations utilisées pour le croisement étaient en effet des caryonides âgés de 30 à 40 divisions cellulaires) qu'entre les deux caryonides du même clone : il faut donc envisager qu'un caryonide puisse, au moins lorsqu'il est âgé, être hétérogène. Ce sont ces différences entre individus appartenant au même caryonide qui sont transmises par hérédité cytoplasmique lors des croisements.

TABLEAU XIV. — **Temps moyens de survie des 28 caryonides appartenant à 7 synclones.**

Synclone I

Clone	Caryonide	T_s
1	a	28,05
	b	25,95
2	a	21,60
	b	18,75

Synclone II

Clone	Caryonide	T_s
1	a	72,90
	b	52,65
2	a	23,55
	b	27,00

Synclone III

Clone	Caryonide	T_s
1	a	44,85
	b	44,10
2	a	39,60
	b	31,35

Synclone IV

Clone	Caryonide	T_s
1	a	26,10
	b	26,55
2	a	76,80
	b	58,20

Synclone V

Clone	Caryonide	T_s
1	a	61,95
	b	54,90
2	a	49,20
	b	46,50

Synclone VI

Clone	Caryonide	T_s
1	a	45,45
	b	40,95
2	a	39,30
	b	47,85

Synclone VII

Clone	Caryonide	T_s
1	a	84,15
	b	59,70
2	a	34,50
	b	23,10

II. — SECONDE PARTIE DE L'EXPERIMENTATION : ROLE DU MACRONUCLEUS

1) Protocole expérimental.

Deux expériences ont été réalisées suivant le protocole expérimental décrit au chapitre précédent pour l'expérience n° 3 relative au mécanisme extrachromosomique de contrôle de la résistance au chlorure de calcium. Chacune de ces deux expériences porte sur 3 synclones dont on a isolé les sous-caryonides III. Ceux-ci ont été maintenus pendant 5 jours en croissance exponentielle, puis leurs résistances ont été déterminées et caractérisées par le paramètre φ (concentration utilisée : 0,08 N pour la 1re expérience, 0,07 N pour la seconde).

2) Résultats.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux XV et XVI. Les résultats de chacune des expériences ont été soumis à une analyse de variance (tableau XVII). En aucun cas il n'y a de différence significative entre les deux estimées d'une même variance élémentaire. Il est donc légitime de raisonner sur leurs moyennes pondérées.

3) Interprétation des résultats.

Les résultats obtenus peuvent être comparés à ceux de la première partie de l'expérimentation. Comme précédemment, des trois variances inter-synclones, intra-synclone inter-clones et intra-clone inter-caryonides, la plus grande est la variance intra-synclone inter-clones. Bien qu'elle ne soit significativement différente d'aucune des deux autres, ce fait est en accord avec les conclusions de la première partie de l'expérimentation : la résistance au chlorure de sodium est contrôlée par le cytoplasme.

D'autre part, la plus petite des variances élémentaires calculées est la variance intra-souscaryonide I inter-souscaryonides II. Elle est significativement inférieure, au seuil de signification de 5 %, mais non au seuil de 1 %, à la variance intra-souscaryonide II inter-souscaryonides III. Ceci semblerait indiquer l'existence d'une corrélation négative entre les résistances des deux souscaryonides III appartenant au même sous-caryonide II. Au contraire, le fait que la variance intra-souscaryonide I inter-souscaryonides II soit inférieure (différence significative au seuil de 5 %, mais non au seuil de 1 %) à la variance intra-caryonide inter-souscaryonides I semblerait traduire une corrélation positive entre les deux souscaryonides II constituant le même sous-caryonide I. Il est difficile d'imaginer qu'il existe dans la cellule une structure, porteuse de déterminants contrôlant la résistance au chlorure de sodium, qui subirait systématiquement une division égale lors de la 3e division cellulaire suivant la conjugaison, et une division inégale lors de la 4e division cellulaire.

L'hypothèse la plus raisonnable consiste donc à admettre que les 3 variances considérées ne sont que des estimées d'une même variance intra-caryonide. Celle-ci

TABLEAU XV

					ϰ	φ
1	a	α	1	1'	0	0,0
				1''	1	10,5
			2	2'	0	0,0
				2''	1	10,5
		β	1	1'	1	10,5
				1''	2	15,0
			2	2'	1	10,5
				2''	0	0,0
	b	α	1	1'	2	15,0
				1''	3	18,4
			2	2'	4	21,4
				2''	2	15,0
		β	1	1'	4	21,4
				1''	6	26,6
			2	2'	mort	
				2''	1	10,5
2	a	α	1	1'	1	10,5
				1''	2	15,0
			2	2'	2	15,0
				2''	1	10,5
		β	1	1'	1	10,5
				1''	5	24,1
			2	2'	2	15,0
				2''	3	18,4
	b	α	1	1'	2	15,0
				1''	10	35,3
			2	2'	3	18,4
				2''	1	10,5
		β	1	1'	3	18,4
				1''	2	15,0
			2	2'	1	10,5
				2''	3	18,4

Synclone I

					ϰ	φ
1	a	α	1	1'	1	10,5
				1''	8	31,1
			2	2'	1	10,5
				2''	1	10,5
		β	1	1'	3	18,4
				1''	0	0,0
			2	2'	1	10,5
				2''	0	0,0
	b	α	1	1'	1	10,5
				1''	2	15,0
			2	2'	1	10,5
				2''	3	18,4
		β	1	1'	2	15,0
				1''	3	18,4
			2	2'	2	10,5
				2''	4	21,4
2	a	α	1	1'	0	0,0
				1''	2	15,0
			2	2'	1	10,5
				2''	3	18,4
		β	1	1'	3	18,4
				1''	0	0,0
			2	2'	3	18,4
				2''	0	0,0
	b	α	1	1'	7	28,9
				1''	0	0,0
			2	2'	5	24,1
				2''	5	24,1
		β	1	1'	1	10,5
				1''	4	21,4
			2	2'	3	18,4
				2''	0	0,0

Synclone II

					ϰ	φ
1	a	α	1	1'	0	0,0
				1''	mort	
			2	2'	2	15,0
				2''	0	0,0
		β	1	1'	2	15,0
				1''	0	0,0
			2	2'	1	10,5
				2''	0	0,0
	b	α	1	1'	1	10,5
				1''	0	0,0
			2	2'	1	10,5
				2''	2	15,0
		β	1	1'	1	10,5
				1''	1	10,5
			2	2'	3	18,4
				2''	3	18,4
2	a	α	1	1'	1	10,5
				1''	7	28,9
			2	2'	1	10,5
				2''	1	10,5
		β	1	1'	3	18,4
				1''	4	21,4
			2	2'	3	18,4
				2''	0	0,0
	b	α	1	1'	14	43,1
				1''	5	24,1
			2	2'	3	18,4
				2''	6	26,6
		β	1	1'	mort	
				1''	0	0,0
			2	2'	4	21,4
				2''	0	0,0

Synclone III

TABLEAU XVI

					κ	φ
1	a	α	1	1'	10	35,3
				1''	10	35,3
			2	2'	8	31,1
				2''	11	37,3
		β	1	1'	8	31,1
				1''	13	41,2
			2	2'	19	52,7
				2''	19	52,7
	b	α	1	1'	16	46,9
				1''	6	26,6
			2	2'	11	37,3
				2''	6	26,6
		β	1	1'	5	24,1
				1''	4	21,4
			2	2'	7	28,9
				2''	4	21,4
2	a	α	1	1'	6	26,6
				1''	15	45,0
			2	2'	8	31,1
				2''	15	45,0
		β	1	1'	10	35,3
				1''	10	35,3
			2	2'	10	35,3
				2''	11	37,3
	b	α	1	1'	7	28,9
				1''	11	37,3
			2	2'	15	45,0
				2''	9	33,2
		β	1	1'	13	41,2
				1''	7	28,9
			2	2'	18	50,8
				2''	13	41,2

Synclone I

					κ	φ
1	a	α	1	1'	9	33,2
				1''	10	35,3
			2	2'	5	24,1
				2''	8	31,1
		β	1	1'	14	43,1
				1''	4	21,4
			2	2'	7	28,9
				2''	6	26,6
	b	α	1	1'	5	24,1
				1''	6	26,6
			2	2'	2	15,0
				2''	6	26,6
		β	1	1'	7	28,9
				1''	5	24,1
			2	2'	7	28,9
				2''	11	37,3
2	a	α	1	1'	14	43,1
				1''	4	21,4
			2	2'	11	37,3
				2''	10	35,3
		β	1	1'	9	33,2
				1''	8	31,1
			2	2'	12	39,2
				2''	11	37,3
	b	α	1	1'	12	39,2
				1''	9	33,2
			2	2'	4	21,4
				2''	19	52,7
		β	1	1	12	39,2
				1''	10	35,3
			2	2'	4	21,4
				2''	8	31,1

Synclone II

					κ	φ
1	a	α	1	1'	6	26,6
				1''	12	39,2
			2	2'	5	24,1
				2''	9	33,2
		β	1	1'	14	43,1
				1''	5	24,1
			2	2'	11	37,3
				2''	4	21,4
	b	α	1	1'	6	26,6
				1''	11	37,3
			2	2'	8	31,1
				2''	3	18,4
		β	1	1'	8	31,1
				1''	7	28,9
			2	2'	10	35,3
				2''	2	15,0
2	a	α	1	1'	10	35,3
				1''	15	45,0
			2	2'	13	41,2
				2''	12	39,2
		β	1	1'	13	41,2
				1''	8	31,1
			2	2'	10	35,3
				2''	12	39,2
	b	α	1	1'	8	31,1
				1''	7	28.9
			2	2'	5	24,1
				2''	6	26,6
		β	1	1'	16	46,9
				1''	5	24,1
			2	2'	6	26,6
				2''	15	45,0

Synclone III

TABLEAU XVII. — **Résultats des analyses de variance.**

Variance	1re expérience	2e expérience	Moyenne pondérée	Degrés de liberté
Inter-synclones	20,16	174,33	97,25	4
Intra-synclone Inter-clones	194,36	200,75	197,56	6
Intra-clone Inter-caryonides	147,62	123,41	135,52	12
Intra-caryonide Inter-sous caryonides I	97,78	61,68	79,73	24
Intra-sous caryonide I Inter-sous caryonides II	48,83	37,68	43,26	48
Intra-sous caryonide II Inter-sous caryonides III	75,80	70,05	72,83	93
Globale	78,97	70,51	74,67	187

peut alors être estimée à 65,23, pour 165 degrés de liberté.

Cette variance intra-caryonide est inférieure à la variance intra-clone inter-caryonides ; la différence est significative au seuil de 5 % (P $\simeq$ 2 %). Il est donc très vraisemblable qu'un caryonide est moins hétérogène qu'un clone, ce qui revient à dire que la résistance au chlorure de sodium est placée sous le contrôle du macronucleus.

III. — CONCLUSIONS

Les résultats exposés ci-dessus conduisent à admettre que la résistance au chlorure de sodium est déterminée génétiquement par un mécanisme extrachromosomique. Celui-ci comprend une composante cytoplasmique et une composante macronucléaire. Il est donc très proche du mécanisme de contrôle de la résistance au chlorure de calcium. Il faut cependant souligner une différence : les résultats obtenus ici sont moins nets que ceux qui concernent la résistance au chlorure de calcium. Il peut y avoir à cela deux origines : ou bien la variabilité introduite par le système extra-chromosomique est plus faible dans le cas de la résistance au chlorure de sodium, ou bien les sous-caryonides III sont encore des populations hétérogènes, ce qui traduirait l'existence d'une différenciation intra-caryonidale qui a déjà été suggérée à propos des résultats de la première partie de l'expérimentation.

Quelles qu'en soient les modalités précises, on peut affirmer qu'il existe un déterminisme extra-chromosomique de la résistance au chlorure de calcium et que sa mise en jeu entraîne l'apparition d'une hétérogénéité génétique au sein d'une lignée pure.

CHAPITRE VII

LE DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION

L'existence au sein d'une population d'un polymorphisme portant sur la vitesse de multiplication est susceptible d'avoir des conséquences extrêmement importantes pour l'évolution de cette population s'il existe une corrélation entre la vitesse de multiplication et un autre caractère héréditaire : il s'y produit en effet nécessairement une sélection efficace, bien que peu apparente, en l'absence de mortalité. De tels phénomènes étant susceptibles de jouer un rôle dans le mécanisme de l'adaptation au chlorure de sodium ou au chlorure de calcium, il a semblé nécessaire d'entreprendre une étude génétique de la vitesse de multiplication.

I. — EXISTENCE D'UN CONTROLE GENETIQUE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION

Avant d'entreprendre l'étude génétique proprement dite de la vitesse de multiplication, une expérience préliminaire a été entreprise afin de répondre à la question suivante : la vitesse de multiplication est-elle un caractère héréditaire ? On pouvait en effet se demander si le polymorphisme observé n'était pas exclusivement phénotypique.

1) Protocole expérimental (fig. 19).

Si la vitesse de multiplication est un caractère héréditaire, on doit trouver une corrélation entre les résultats de mesures successives effectuées sur une série de lignées. Cette recherche a été effectuée sur 30 lignées extraites d'une population de la souche 90. Chaque lignée a été maintenue en croissance exponentielle pendant 3 jours, puis dans chacune ont été prélevés 10 individus, dont la multiplication sur concavité a fourni au bout de 24 heures un effectif n_1, permettant de définir la vitesse de multiplication $v_1 = \log_2 \frac{n_1}{10}$; parmi ces n_1 individus, 10 ont été prélevés et placés sur concavité et ont fourni

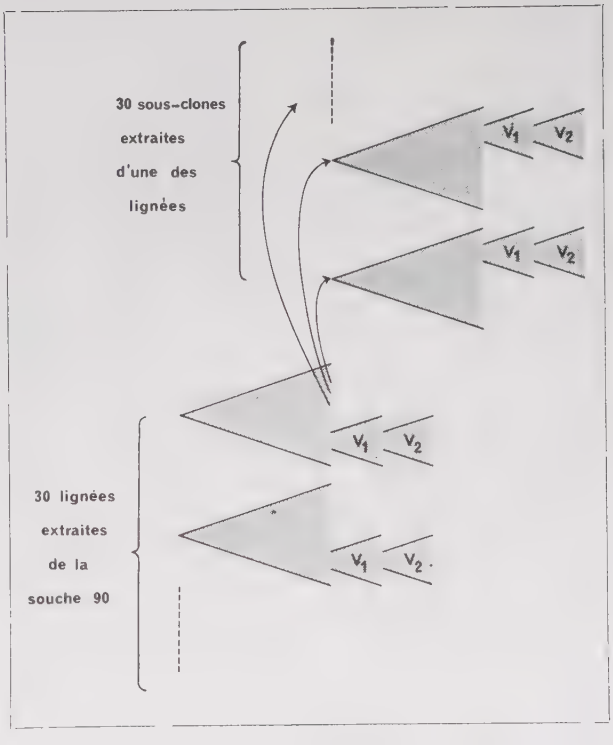

Fig. 19. — Schéma de l'expérience montrant que la vitesse de multiplication est un caractère héréditaire.

au bout de 24 heures un effectif n_2, d'où une seconde estimée de la vitesse de multiplication de la lignée : $v_2 = \log_2 \frac{n_2}{10}$. La valeur du coefficient de corrélation entre v_1 et v_2 permet d'apprécier l'*héritabilité* de la vitesse de multiplication dans la population d'où sont issues les 30 lignées étudiées.

On peut toutefois penser qu'une corrélation positive

pourrait être trouvée entre v_1 et v_2 dans le cas où le polymorphisme serait exclusivement phénotypique, corrélation introduite par les conditions d'expérience. C'est pourquoi l'expérimentation a été complétée de la façon suivante : d'une des 30 lignées étudiées ont été extraits 30 sous-clones (la lignée était alors âgée de 3 jours) pour lesquels on a déterminé, dans les conditions décrites ci-dessus, deux estimées v_1 et v_2 de la vitesse de multiplication, dont on a recherché si elles étaient en corrélation entre elles.

2) Résultats et conclusions.

Les valeurs numériques des deux estimées successives des vitesses de multiplication pour les 30 lignées étudiées sont consignées dans le tableau XVIII. Les valeurs correspondantes obtenues pour les 30 sous-clones extraits de la lignée n° 1 sont fournies dans le tableau XIX.

Le coefficient de corrélation entre v_1 et v_2, pour les 30 lignées de la souche 90, vaut 0,594. Il est significativement différent de zéro au seuil de signification de 0,1 %. Au contraire dans le cas des 30 sous-clones extraits de la lignée n° 1, on trouve un coefficient de corrélation de — 0,014, non significativement différent de zéro.

TABLEAU XVIII. — **Valeurs des estimées successives des vitesses de multiplication de 30 lignées de la souche 90.**

N°	v_1	v_2	N°	v_1	v_2
1	3,32	3,94	16	3,55	4,18
2	4,12	4,05	17	4,13	4,11
3	3,78	3,81	18	3,91	3,81
4	3,77	3,75	19	3,72	4,10
5	3,99	4,40	20	3,54	3,58
6	3,17	3,73	21	3,73	3,86
7	3,19	3,36	22	4,44	4,26
8	3,69	3,47	23	3,19	2,91
9	3,42	3,09	24	3,09	4,20
10	3,87	4,22	25	3,85	4,64
11	4,13	4,55	26	4,40	4,58
12	3,91	4,29	27	4,17	4,07
13	4,19	3,91	28	3,75	4,50
14	4,06	4,25	29	3,93	4,30
15	3,99	4,64	30	3,99	4,15

Les deux coefficients de corrélation calculés sont significativement différents l'un de l'autre au seuil de 1 %. La vitesse de multiplication est donc un caractère héréditaire, et la population de la souche 90 étudiée est polymorphe pour ce caractère. Le problème à résoudre est maintenant celui du déterminisme génétique de la vitesse de multiplication.

TABLEAU XIX. — **Valeurs des estimées successives des vitesses de multiplication de 30 sous-clones extraits d'une lignée de la souche 90.**

N°	v_1	v_2	N°	v_1	v_2
1	3,89	4,61	16	4,17	4,52
2	4,61	4,87	17	4,16	5,12
3	4,23	4,84	18	4,42	4,92
4	4,64	4,84	19	4,49	4,89
5	4,56	4,57	20	4,54	4,26
6	4,52	4,90	21	3,95	4,53
7	4,37	4,92	22	4,10	4,79
8	4,81	4,77	23	4,29	5,00
9	3,97	4.98	24	4,29	4,80
10	4,11	4,69	25	4,90	3,85
11	3,97	4,78	26	5,04	5,08
12	4,64	4,84	27	5,14	4,97
13	4,41	4,91	28	4,84	4,89
14	3,99	4,80	29	4,86	4,75
15	3,86	4,75	30	4,61	4,82

Etant donné ce qu'on sait des particularités génétiques des Ciliés on peut envisager trois modalités de contrôle génétique de la vitesse de multiplication : contrôle génique ; contrôle cytoplasmique ; contrôle macronucléaire. Des expériences ont été réalisées dans le but de tester chacune de ces trois modalités.

II. — CONTROLE GENETIQUE CYTOPLASMIQUE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION

Un croisement a été réalisé entre deux caryonides appartenant à une lignée pure de la souche 90. Ces deux caryonides avaient été choisis de sorte que leurs vitesses de multiplication respectives soient aussi différentes que possible (des mesures préliminaires avaient fourni les valeurs suivantes : 2,32 et 3,85).

7 couples de conjugants ont été isolés, puis les ex-conjugants ont été séparés, ainsi que les produits de la 1re division de ces ex-conjugants (fig. 20). Après 2 jours de multiplication exponentielle, on disposait donc de 28 caryonides, répartis en 7 synclones, les 4 caryonides constituant chaque synclone étant désignés par 1a, 1b (descendants de l'un des ex-conjugants), 2a, 2b (descendants de l'autre ex-conjugant). On a alors isolé pour chaque caryonide 1 individu : cette opération avait pour but d'obtenir une population homogène, au cas où un caryonide aurait été lui-même hétérogène. Après 3 jours de croissance, chaque caryonide était représenté par une population dont on a estimé la vitesse de multiplication de la manière suivante : 10 individus étaient prélevés,

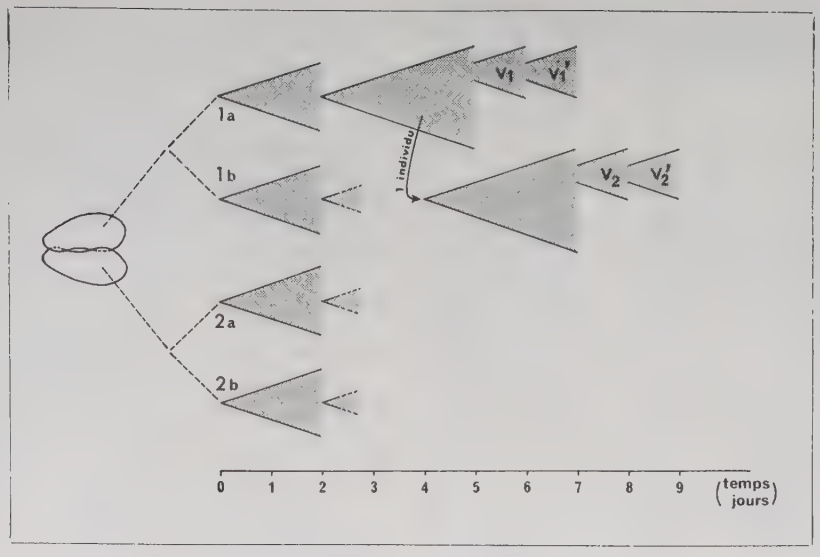

FIG. 20. — Schéma de l'expérience montrant que la vitesse de multiplication est sous contrôle génétique du cytoplasme.

placés sur 0,7 cm³ de milieu de culture ; ils fournissaient au bout de 24 heures un effectif n_1 ; sur ces n_1, 10 individus étaient à leur tour placés sur 0,7 cm³ de milieu de culture et fournissaient au bout de 24 heures un effectif n'_1.

De ces données ont été déduites deux estimées v_1 et v'_1 de la vitesse de multiplication de chaque caryonide. Deux autres estimées, v_2 et v'_2, ont été obtenues en opérant de manière identique sur des populations obtenues, pour chaque caryonide, à partir d'un individu isolé lorsque le caryonide était âgé de 4 jours.

Ces quatre estimées, pour chacun des 28 caryonides étudiés sont portées dans le tableau XX.

L'analyse de variance pratiquée sur ces données fournit les résultats suivants :

— variance inter-caryonides : 0,50 pour 27 degrés de liberté ;
— variance entre les 4 séries d'estimées : 0,27 pour 3 degrés de liberté ;
— variance résiduelle : 0,052 pour 81 degrés de liberté.

L'« effet caryonide » est significatif au seuil de signification de 0,1 %. L'« effet jour » est significatif au seuil de signification de 1 %. Il existe donc une variabilité journalière de la vitesse de multiplication. Cette variabilité a été retrouvée dans toutes les expériences : elle se traduit par des variations simultanées de la vitesse de multiplication dans toutes les cultures, même appartenant à des souches différentes. Il a été impossible de détecter les causes de ces variations qui constituent une gêne importante pour l'analyse des résultats expérimentaux car elles sont du même ordre de grandeur que la variabilité analysée.

L'existence d'un « effet caryonide » hautement significatif montre bien qu'il existe des différences stables entre les caryonides. Pour plus de précision, l'analyse de variance a été poussée plus loin et la variance inter-caryonides a été analysée en :

— variance intra-clone : 0,056 pour 14 degrés de liberté ;
— variance inter-clones intra-synclone : 0,437 pour 7 degrés de liberté ;
— variance inter-synclones : 1,62 pour 6 degrés de liberté.

La variance intra-clone n'est pas significativement différente de la variance résiduelle : on ne détecte donc pas de différences entre les 2 caryonides d'un même clone.

La variance inter-clones intra-synclone est supérieure à la variance intra-clone, au seuil de signification de 1 % : ce résultat traduit l'existence d'un déterminisme cytoplasmique de la vitesse de multiplication. Dans ces conditions on pourrait s'attendre à trouver une variance inter-synclones plus faible que la variance inter-clones intra-synclone, comme dans le cas du déterminisme cytoplasmique de la résistance au chlorure de calcium. Il n'en est rien : la variance inter-synclones est supérieure à la variance inter-clones intra-synclone ; cette différence est tout juste significative au seuil de 5 %. Ce résultat peut être interprété en admettant que les populations croisées étaient hétérogènes. Il est du reste visible que le synclone V a un comportement particulier : le clone V, 1, notamment, a une vitesse de multiplication particulièrement faible. Si l'on pratique l'analyse de variance en éliminant les valeurs relatives au synclone V on trouve les valeurs suivantes :

— variance intra-clone : 0,063 pour 12 degrés de liberté ;
— variance inter-clones intra-synclone : 0,031 pour 6 degrés de liberté ;
— variance inter-synclones : 0,064 pour 5 degrés de liberté ;

TABLEAU XX. — **Valeurs des vitesses de multiplication de 28 caryonides appartenant à 7 synclones issus d'un croisement entre 2 caryonides d'une même lignée pure de la souche 90.**

Caryonide			v_1	v'_1	v_2	v'_2
I	1	a	3,90	3,94	3,96	3,78
		b	3,73	3,94	3,02	3,60
	2	a	3,60	3,81	3,35	3,82
		b	3,91	3,96	3,70	3,61
II	1	a	3,78	3,96	3,74	3,46
		b	3,96	3,61	3,65	3,79
	2	a	3,61	3,84	3,12	3,26
		b	3,94	4,00	3,41	3,94
III	1	a	3,74	3,94	3,39	3,77
		b	3,49	3,94	3,47	3,99
	2	a	3,63	3,81	3,43	3,93
		b	3,70	3,91	3,87	3,98
IV	1	a	3,83	3,58	3,81	3,57
		b	3,29	3,91	3,47	3,82
	2	a	3,69	3,68	3,81	3,34
		b	3,64	3,81	3,83	3,46
V	1	a	2,20	2,46	2,43	2,56
		b	2,51	2,61	2,74	2,10
	2	a	3,77	3,22	3,10	3,29
		b	3,46	2,93	3,43	3,19
VI	1	a	3,99	3,94	3,89	3,47
		b	3,60	3,87	3,79	3,54
	2	a	3,92	3,98	3,86	3,72
		b	3,72	3,75	3,84	3,68
VII	1	a	3,56	3,93	3,51	3,39
		b	3,05	4,00	3,63	3,14
	2	a	3,26	3,82	3,88	3,46
		b	3,98	4,02	3,91	3,23

Ces résultats ne laissent apparaître ni « effet clone », ni « effet synclone ». On peut donc penser qu'un des deux conjugants ayant donné naissance au synclone V était exceptionnel et que cette qualité a été transmise par voie cytoplasmique à sa descendance.

Quant à l' « effet synclone », s'il est réel, on peut l'expliquer en admettant que des échanges cytoplasmiques se sont produits entre partenaires au cours de la conjugaison. De tels échanges n'auraient pu être détectés, car les couples de conjugants n'ont pas été observés depuis leur isolement jusqu'au moment où ont été séparés les ex-conjugants : cette séparation avait été faite assez tardivement ; dans de nombreux cas, les ex-conjugants s'étaient déjà divisés et se trouvaient donc inutilisables pour la suite de l'expérience : il a donc été fait à ce stade de l'expérimentation une sélection des couples ayant un certain retard dans l'accomplissement de la conjugaison ; c'est précisément parmi ceux-ci que se trouvent éventuellement les couples exceptionnels qui ont échangé du cytoplasme lors de la conjugaison.

En définitive, les conclusions que l'on peut dégager de cette expérimentation sont les suivantes :

1. Il existe un contrôle génétique extra-chromosomique de la vitesse de multiplication.

2. Une lignée pure n'est pas homogène pour la vitesse de multiplication. En particulier un caryonide n'est pas nécessairement homogène : il peut donc se produire une différenciation indépendante des phénomènes sexuels.

3. Des différences acquises lors de la vie végétative peuvent être transmises par voie cytoplasmique lors de la conjugaison.

Les résultats décrits ci-dessus ne permettent pas de savoir si le macronucleus joue un rôle dans le déterminisme génétique de la vitesse de multiplication.

III. — CONTROLE MACRONUCLEAIRE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION

1) Mise en évidence.

Une expérimentation comparable à celle qui a été décrite au paragraphe précédent a été effectuée sur une lignée pure de la souche 60 : deux caryonides appartenant à la même lignée pure ont été croisés : 3 couples de conjugants ont été isolés puis on a séparé les ex-conjugants, puis les produits des deux premières divisions des ex-conjugants. On a ainsi obtenu les sous-caryonides I dont la vitesse de multiplication a été mesurée alors qu'ils étaient âgés de 7 jours. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XXI.

L'analyse de la variance permet de calculer (variance globale : 0,306) :

— la variance intra-caryonide : 0,016 pour 11 degrés de liberté ;

— la variance inter-caryonides intra-clone : 0,083 pour 6 degrés liberté ;

— la variance inter-clones intra-synclone : 1,67 pour 3 degrés de liberté ;

— la variance inter-synclones : 0,52 pour 2 degrés de liberté.

La comparaison de ces variances conduit aux conclusions suivantes :

1) Il y a corrélation entre les vitesses de multiplication des deux caryonides du même clone (la variance inter-caryonides intra-clone est significativement inférieure à la variance inter-clones intra-synclone, au seuil de 1 %) ;

2) Il y a corrélation entre les vitesses de multiplication des deux sous-caryonides I du même caryonide

TABLEAU XXI. — **Valeurs des vitesses de multiplication des sous-caryonides I de 3 synclones résultant d'un croisement entre deux caryonides appartenant à une même lignée pure de la souche 60.**

1	a	α	3,15
		β	2,93
	b	α	3,23
		β	3,60
2	a	α	3,77
		β	3,56
	b	α	3,05
		β	3,15

Synclone I

1	a	α	3,51
		β	3,62
	b	α	3,67
		β	Mort
2	a	α	3,43
		β	3,45
	b	α	3,36
		β	3,32

Synclone II

1	a	α	3,83
		β	3,80
	b	α	3,55
		β	3,80
2	a	α	2,23
		β	2,10
	b	α	2,14
		β	2,26

Synclone III

(variance intra-caryonide significativement inférieure au seuil de 1 %, à la variance inter-caryonides intra-clone).

3) Il n'y a pas d' « effet synclone » : les variances inter-clones intra-synclone et inter-synclones ne sont pas significativement différentes ($P \backsim 20\,\%$).

Ces résultats confirment donc ceux de l'expérience décrite au paragraphe précédent : des différences héréditaires sont transmises par le cytoplasme. Ils apportent de plus la précision suivante : un clone est hétérogène, mais un caryonide est moins hétérogène qu'un clone. Ceci montre que la vitesse de multiplication est contrôlée par un système extra-chromosomique mettant en jeu à la fois des déterminants cytoplasmiques et des déterminants macronucléaires. Ce mécanisme présente donc une analogie profonde avec ceux qui ont été mis en évidence pour le contrôle génétique de la résistance au chlorure de calcium et de la résistance au chlorure de sodium.

Comme dans ces deux autres cas il se pose un problème important : l'existence d'une hétérogénéité intra-caryonidale, hétérogénéité qui ressort clairement des résultats de l'expérience décrite au paragraphe précédent. Il se produit une différenciation dans un caryonide au cours de sa croissance par multiplication végétative. Il était intéressant de chercher à préciser la cinétique de cette différenciation.

2) Le problème de la différenciation intra-caryonidale.

S'il se produit une différenciation introduisant des différences héréditairement stables entre les individus composant un caryonide, on peut s'attendre à extraire

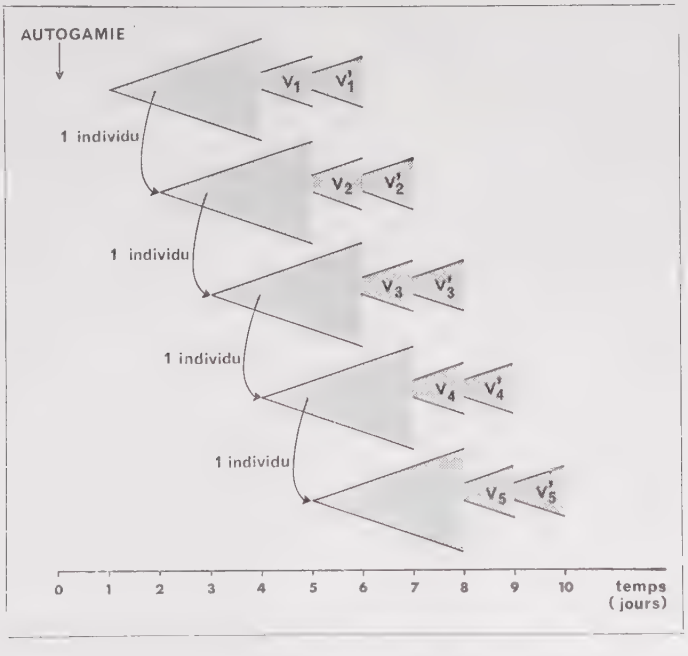

Fig. 21. — Schéma de l'expérience relative à la différenciation intracaryonidale.

d'un caryonide des sous-caryonides d'autant plus homogènes qu'ils sont extraits d'un caryonide âgé. Pour tester cette hypothèse, une expérience a été réalisée, portant sur 30 caryonides de la souche 90 (fig. 21).

Dans une lignée pure de la souche 90, 30 individus, isolés après autogamie, donnent naissance à 30 caryonides. Au bout d'une journée, 1 individu pris au hasard est repiqué à partir de chaque caryonide. Le reste de la population est maintenu encore 2 jours en croissance exponentielle puis sa vitesse de multiplication est mesurée deux jours de suite, ce qui fournit deux estimées v_1 et v'_1.

Les sous-caryonides obtenus à partir des individus isolés lorsque les caryonides étaient âgés de 1 jour sont traités exactement de la même manière : au bout de 24 heures, un individu par sous-caryonide est isolé pour former un sous-caryonide d'ordre plus élevé tandis que le reste de la population est conservé pour effectuer deux mesures successives de la vitesse de multiplication : v_2 et v'_2.

Le même travail est effectué sur ces nouveaux sous-caryonides, et ainsi de suite, jusqu'à ce que l'on obtienne les estimées v_5 et v'_5 : à ce stade les caryonides sont âgés de 10 jours, et l'on pourrait craindre, si l'expérience était poursuivie plus longtemps, que l'intervention de l'autogamie dans certaines cultures ne vienne fausser les résultats.

Les mesures de vitesse de multiplication sont effectuées de la manière suivante : dans la population en phase de croissance exponentielle, 10 individus sont prélevés et placés sur concavité. Ils se multiplient pendant 24 heures en fournissant n individus ; la vitesse v est : $\log_2 \frac{n}{10}$. Parmi les n individus, 10 sont prélevés et placés sur concavité. Au bout de 24 heures on obtient n' individus, d'où $v' = \log_2 \frac{n'}{10}$.

Les résultats sont consignés dans le tableau XXII.

L'homogénéité génétique des sous-caryonides, par rapport à la variabilité de l'ensemble des 30 caryonides, peut être mesurée par le coefficient de corrélation r_i entre v_i et v'_i.

Les 5 valeurs calculées sont :

$$r_1 = 0{,}29$$
$$r_2 = 0{,}38$$
$$r_3 = 0{,}51$$
$$r_4 = 0{,}15$$
$$r_5 = 0{,}12$$

Si l'on ne tient pas compte de l'ordre dans lequel ces 5 valeurs ont été obtenues, elles sont homogènes et l'on peut évaluer un coefficient de corrélation moyen qui vaut 0,30 et est significativement différent de 0 au seuil de 0,1 %. Ceci traduit l'existence de différences héréditairement stables entre les 30 caryonides étudiés. C'est donc une confirmation des résultats obtenus par l'étude de la descendance de croisements : le macronucleus contrôle, au moins partiellement, la vitesse de multiplication.

En ce qui concerne le problème de la différenciation intra-caryonidale, contrairement à ce qu'on aurait pu prévoir, des 5 coefficients de corrélation calculés, ce sont les deux derniers qui sont les plus faibles. Il semble qu'il y ait là contradiction avec l'hypothèse même de l'existence d'une différenciation intra-caryonidale. Toutefois, il est un autre phénomène qui accompagne nécessairement tout phénomène de différenciation portant sur la vitesse de multiplication : c'est la sélection. Si une population devient hétérogène pour la vitesse de multiplication, il est inévitable que soient sélectionnées les lignées à multiplication rapide, ce qui tend non seulement à faire disparaître l'hétérogénéité au sein d'une population, mais encore, puisque la même sélection se produit dans toutes les populations, à atténuer les différences pouvant exister éventuellement entre populations. Dans le cas de l'expérience décrite, il est évident que ce phénomène tend à faire diminuer le coefficient de corrélation entre v et v' : en effet, si tous les caryonides sont susceptibles de subir une différenciation les rendant hétérogènes pour la vitesse de multiplication, les sous-caryonides que l'on pourra en extraire auront une probabilité croissante avec le temps de présenter la vitesse de multiplication la plus élevée possible, c'est-à-dire d'être identiques entre eux.

Le phénomène observé est donc la résultante de deux phénomènes élémentaires : le phénomène différenciation qui tend à faire augmenter au cours du temps la valeur du coefficient de corrélation r_i entre v_i et v'_i, et le phénomène sélection qui tend à le faire décroître. Les résultats obtenus peuvent donc dépendre des importances relatives de ces deux phénomènes élémentaires.

Cette complexité constitue un obstacle important à l'approche expérimentale de la différenciation portant sur la vitesse de multiplication. Elle explique que les expériences soient difficilement reproductibles. Dans une expérience effectuée dans des conditions aussi rigoureusement identiques que possible à celle qui vient d'être décrite et discutée, les résultats suivants ont été obtenus :

$$r_1 = 0{,}21$$
$$r_2 = 0{,}04$$
$$r_3 = 0{,}33$$
$$r_4 = 0{,}09$$
$$r_5 = 0{,}17$$

Ces résultats sont très différents des précédents : le seul point commun est que, dans les deux cas, le plus grand des 5 coefficients de corrélation est r_3, mais ce fait ne peut être retenu, en l'absence d'une corrélation significative entre les valeurs homologues des deux séries de résultats.

En conclusion, le problème posé n'a pu être résolu. Il ne fait pourtant aucun doute que la différenciation intracaryonidale existe. Mais son étude est rendue très

TABLEAU XXII. — **Etude de la différenciation intracaryonidale sur 30 caryonides d'une même lignée pure de la souche 90.**

N°	v_1	v'_1	v_2	v'_2	v_3	v'_3	v_4	v'_4	v_5	v'_5
1	3,49	3,78	2,81	3,57	3,47	3,87	3,83	4,15	3,31	3,68
2	2,77	1,38	2,38	3,95	3,86	3,82	3,82	3,98	3,38	3,92
3	3,63	3,55	3,00	3,74	3,77	3,94	3,98	3,87	3,36	3,84
4	2,93	3,81	3,41	3,66	3,55	3,51	3,51	3,71	3,32	3,62
5	3,00	4,00	2,32	3,92	3,94	3,96	3,79	4,02	3,10	3,83
6	3,34	3,56	2,43	3,88	3,83	3,91	3,78	3,94	2,91	3,69
7	3,45	3,14	3,09	3,74	3,57	3,69	4,01	4,01	3,15	3,99
8	3,50	3,66	2,94	3,80	3,83	3,90	3,87	3,97	3,67	3,36
9	3,00	3,97	2,83	3,97	3,55	3,81	3,56	3,99	3,02	3,55
10	3,09	3,75	3,00	3,99	3,83	3,89	3,93	3,97	3,00	3,67
11	3,46	3,66	2,38	3,86	3,92	3,94	3,96	4,00	3,07	3,85
12	3,26	3,84	2,58	4,00	3,79	3,75	3,73	3,92	3,47	3,84
13	3,00	3,74	2,61	3,41	3,85	3,99	3,72	3,94	2,94	4,00
14	2,94	3,93	2,85	3,69	3,94	3,98	3,84	4.05	3,29	3,94
15	3,68	3,56	2,58	4,01	3,51	3,96	3,91	3,94	3,00	3,87
16	3,56	4,00	2,83	4,15	3,82	3,67	3,94	4,00	3,45	3,94
17	3,58	3,95	2,77	3,00	3,22	2,35	2,93	3,19	2,87	2,35
18	3,26	4,01	2,77	4,10	3,98	3,80	3,68	4,39	3,52	3,84
19	3,00	3,87	3,02	4,29	4,02	3,98	3,93	4,18	3,28	3,94
20	3,67	3,87	3,00	3,87	3,85	3,94	4,00	4,64	3,77	3,87
21	3,00	4,00	3,26	4,33	3,92	3,94	3,60	3,97	3,45	3,72
22	3,66	4,10	3,45	4,19	3,92	3,07	4,21	3,04	3,52	3,66
23	3,56	3,95	3,10	4,58	4,09	3,93	3,82	4,02	3,10	3,95
24	3,09	3,93	2,98	4,57	4,00	3,54	3,04	4,07	3,28	3,88
25	3,50	3,86	3,64	4,10	3,99	3,90	3,71	3,94	2,81	3,88
26	3,92	4,00	3,43	4,36	3,43	3,66	3,74	4,21	3,00	3,92
27	3,34	3,88	3,04	4,30	3,94	3,89	3,98	3,94	2,91	3,80
28	3,07	3,96	3,77	4,26	3,92	3,98	3,99	4,26	3,14	3,79
29	3,89	4,02	3,36	4,24	3,87	4,00	3,78	4,17	3,20	3,94
30	3,54	3,90	3,38	4,47	3,38	3,64	3,32	4,21	3,94	3,75

difficile par le fait que la sélection, inévitable, a pour effet de faire disparaître l'hétérogénéité des populations. Pour la conserver, il faudrait maintenir pour chaque population un effectif illimité, et utiliser des échantillons très nombreux, ce qui est difficilement réalisable, pour des raisons pratiques.

IV. — RECHERCHE D'UN CONTROLE GENIQUE DE LA VITESSE DE MULTIPLICATION

L'étude d'un éventuel contrôle génique de la vitesse de multiplication n'a pas été entreprise en détail. Toutefois certains résultats laissent supposer que ce contrôle existe. Le contraire serait d'ailleurs bien surprenant : un caractère aussi complexe, qui est la résultante de l'ensemble des fonctions cellulaires, ne peut échapper à un contrôle génique.

Deux types d'expériences fournissent des arguments en faveur d'un contrôle génique de la vitesse de multiplication.

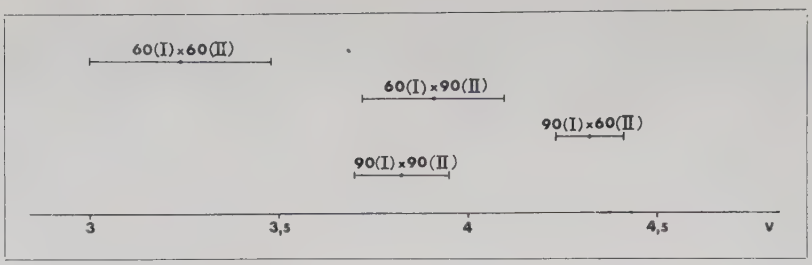

Fig. 22. — Mise en évidence d'un phénomène d'hétérosis (1re expérience).

1) Existence de phénomènes d'hétérosis.

Les souches 60 et 90 ne présentent pas de différence en ce qui concerne la vitesse de multiplication. Ceci ne signifie pas, toutefois, qu'elles ont la même constitution génique. Nous avons vu en effet (chap. V) que ces deux souches possèdent des systèmes géniques différents contrôlant la résistance au chlorure de calcium, bien que leurs résistances à ce sel ne soient pas significativement différentes. Dans le but de savoir s'il en est de même dans le cas du contrôle génétique de la vitesse de multiplication, des croisements ont été réalisés entre la souche 60 et la souche 90.

Dans une lignée pure de la souche 60 sont isolés deux caryonides de types sexuels complémentaires. Le même travail est effectué, simultanément, sur une lignée pure de la souche 90.

Entre les 4 caryonides isolés, 60 (I), 60 (II), 90 (I), 90 (II), 4 croisements sont possibles :

60 (I) × 60 (II)
90 (I) × 90 (II)
60 (I) × 90 (II)
90 (I) × 60 (II)

Pour chacune des F_1 obtenus, des caryonides ont été isolés ; leurs vitesses de multiplication ont été mesurées. Les moyennes suivantes ont été obtenues :

60 (I) × 60 (II) : 3,240
90 (I) × 90 (II) : 3,826
60 (I) × 90 (II) : 3,907
90 (I) × 60 (II) : 4,319

Ces résultats sont traduits graphiquement par le schéma de la fig. 22 : pour chacune des F_1, la moyenne des vitesses de multiplication des divers caryonides étudiés y est représentée, encadrée par son intervalle de confiance au seuil de signification de 5 %. Il est clair que les résultats obtenus ne sont pas homogènes (variance inter-F_1 : 5,15 pour 3 degrés de liberté ; variance intra-F_1 : 0,14 pour 78 degrés de liberté). Il existe donc des différences entre les F_1. De telles différences peuvent avoir été introduites par la mise en jeu du mécanisme extra-chromosomique étudié précédemment : on peut ainsi expliquer l'existence d'une différence significative, au seuil de signification de 1 % entre les Fl « réciproques » 60 (I) × 90 (II) et 90 (I) × 60 (II). On peut aussi interpréter de cette manière la différence entre les Fl 60 (I) × 60 (II) et 90 (I) × 90 (II), significative au seuil de 1 % alors qu'il n'y a pas de différence entre les souches 60 et 90. Ces différences semblent dues essentiellement au caryonide 60 (I) qui transmettrait par voie « cytoplasmique » un caractère « vitesse de multiplication faible ». Ceci est confirmé par l'étude détaillée des F_1 : les deux croisements auxquels a participé le caryonide 60 (I) montrent des effets cytoplasmiques importants.

Cependant si ce mécanisme était la seule source de variation, la somme des vitesses de multiplication des F_1 60 (I) × 60 (II) et 90 (I) × 90 (II) devrait être égale à la somme des vitesses de multiplication des F_1 60 (I) × 90 (II) et des 90 (I) × 60 (II). Or la première somme (7,066) est nettement inférieure à la seconde (8,226). La seule interprétation possible est d'admettre que les souches 60 et 90 présentent des différences géniques, les effets des gènes n'étant pas additifs : les hybrides présentent une vitesse de multiplication plus grande que les populations dotées des génotypes parentaux. On peut parler d'*hétérosis*, mais il est impossible d'émettre une hypothèse précise sur le méca-

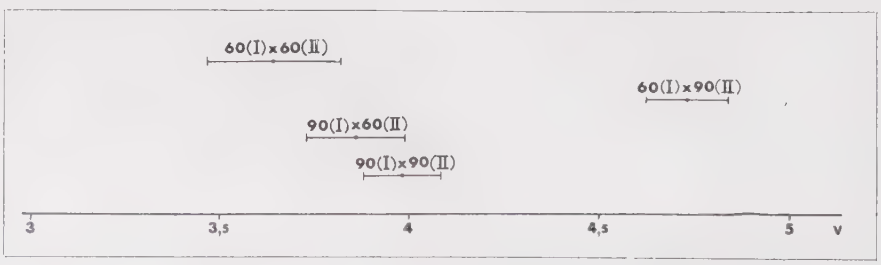

Fig. 23. Mise en évidence d'une phénomène d'hétérosis (2e expérience).

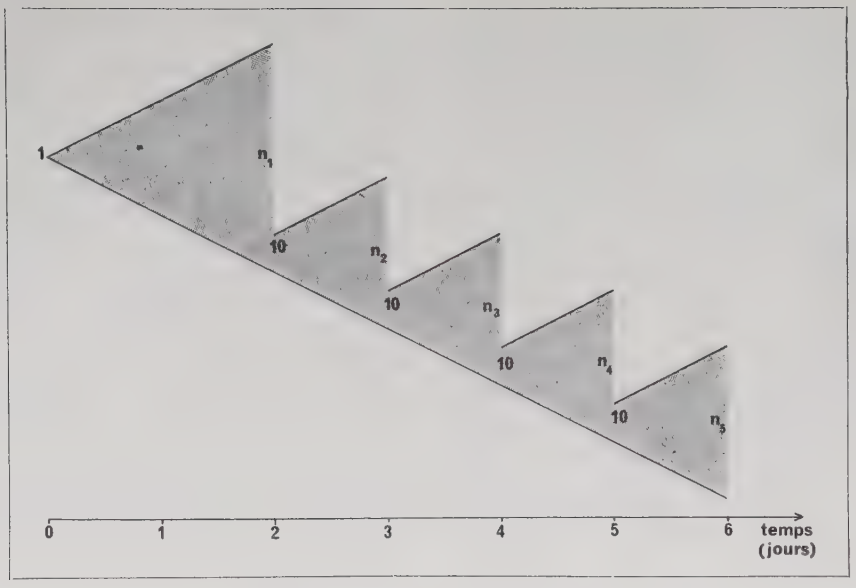

FIG. 24. — Principe de l'étude de l'héritabilité d'une population (une seule sous-population est représentée).

nisme élémentaire qui la provoque : phénomènes de dominance, ou d'hyperdominance.

Dans une seconde expérience les résultats obtenus sont comparables et méritent une explication analogue. Ils sont représentés graphiquement par le schéma de la figure 23.

2) ETUDE DE L' « HÉRITABILITÉ » D'UNE F_2 60 × 90.

Si dans une lignée pure on isole des individus après autogamie on peut estimer jour après jour les vitesses de multiplication des caryonides obtenus. Le coefficient de corrélation entre deux estimées successives peut être considéré comme représentatif de l'héritabilité d'une lignée pure dans laquelle a eu lieu l'autogamie.

L'expérience peut être pratiquement réalisée de la manière suivante (fig. 24) : dans une lignée pure 30 individus sont isolés après autogamie. Les caryonides obtenus sont maintenus en multiplication pendant 48 heures : ils atteignent l'effectif n_1 et la vitesse de multiplication pendant les deux premiers jours est définie par $v_1 = \frac{1}{2} \log_2 n_1$. Sur les n_1 individus, 10 sont repiqués, fournissant au bout de 24 heures l'effectif n_2, d'où la valeur de la vitesse de multiplication durant ce laps de temps de 24 heures : $n_2 = \log_2 \frac{n_2}{10}$. Sur les n_2 individus, 10 sont à nouveau repiqués, et le même travail est poursuivi chaque jour jusqu'à ce qu'on obtienne l'effectif n_5 et l'estimée v_5. Soit r_1 le coefficient de corrélation entre v_1 et v_2, r_2 le coefficient de corrélation entre v_2 et v_3, r_3 et r_4 les coefficients de corrélation, respectivement entre v_3 et v_4 et entre v_4 et v_5.

Une expérience réalisée sur la souche 90 fournit les résultats suivants :

$r_1 = -0{,}026$
$r_2 = 0{,}371$
$r_3 = 0{,}696$
$r_4 = 0{,}650$

Les valeurs r_1 et r_2 ne sont pas significativement différentes de zéro au seuil de signification de 5 %. Au contraire, les valeurs r_3 et r_4 sont significativement positives au seuil de 0,1 %. Plus précisément, on observe au cours du temps un accroissement du coefficient de corrélation : cet accroissement est significatif au seuil de signification de 1 %. L'interprétation de ce résultat est simple : des différences héréditaires existent entre les caryonides ; ces différences contrôlées par le macronucleus ne s'expriment pas lorsque les caryonides sont jeunes ; le délai d'expression est de l'ordre d'une dizaine de divisions cellulaires.

Des résultats analogues sont obtenus en opérant sur la souche 60 :

$r_1 = 0{,}368$
$r_2 = 0{,}143$
$r_3 = 0{,}612$
$r_4 = 0{,}617$

Au contraire, en effectuant le même travail, non sur des caryonides différents, mais sur 25 sous-clones appartenant au même caryonide, les valeurs suivantes ont été trouvées :

$r_1 = 0{,}285$
$r_2 = 0{,}475$
$r_3 = 0{,}109$
$r_4 = 0{,}067$

L'ensemble de ces 4 valeurs est tout juste significativement positif au seuil de signification de 2 %, mais il n'y a pas ici d'accroissement au cours du temps du coefficient de corrélation. La corrélation observée peut

être soit purement phénotypique, c'est-à-dire liée à une variabilité introduite par les différences de conditions de culture d'un sous-clone à l'autre, soit génétique, c'est-à-dire résultant d'une différenciation intra-caryonidale. Il est impossible de choisir entre ces deux hypothèses, mais le fait important est que les valeurs de r_3 et r_4, qui ne sont dans aucun des 3 cas significativement différentes l'une de l'autre, sont, dans le cas des sous-clones appartenant à un même caryonide, significativement inférieures (au seuil de 1 %) aux valeurs correspondantes obtenues pour des caryonides différents appartenant soit à la souche 60, soit à la souche 90.

Ce résultat confirme bien que le déterminisme génétique de la vitesse de multiplication est en partie assuré par des facteurs macronucléaires. Un autre élément important apporté par cette expérimentation est le suivant : en raison du délai d'expression d'environ 10 divisions cellulaires, les comparaisons d'héritabilité de populations différentes ne doivent être faites que sur des caryonides âgés d'au moins 10 divisions cellulaires. D'autre part, en raison de l'existence vraisemblable d'une différenciation intracaryonidale accompagnée de sélection qui tend finalement à rendre identiques tous les caryonides, il importe de faire ces comparaisons sur des caryonides suffisamment jeunes.

En poursuivant pendant plusieurs jours des expériences du type de celles décrites ci-dessus, nous avons constaté que le coefficient de corrélation représentatif de l'héritabilité diminue de façon significative après environ vingt divisions cellulaires. Nous n'effectuerons donc de comparaisons que sur des populations constituées de caryonides âgés de 10 à 20 divisions cellulaires.

Pour rechercher si des gènes interviennent dans le déterminisme génétique de la vitesse de multiplication, l'héritabilité d'une population constituée de caryonides appartenant à une lignée pure de la souche 60 ou de la souche 90 a été comparée à l'héritabilité d'une population composée de caryonides constituant la F_2 d'un croisement 60 $\times$ 90. Pratiquement cette F_2 a été constituée en induisant l'autogamie dans une population issue d'un individu isolé dans la F_1, 17 jours après la réalisation du croisement 60 par 90. La suite de l'expérimentation est identique à ce qui a été décrit précédemment. Trois valeurs du coefficient de corrélation entre estimées successives de la vitesse de multiplication des caryonides répondent à la condition d'âge établie par les expériences préliminaires : ce sont 0,856 ; 0,888 ; 0,869 (ces résultats sont obtenus sur 23 caryonides).

Ces valeurs ne sont pas significativement différentes entre elles. On peut donc déterminer un coefficient de corrélation moyen représentant l'héritabilité de la F_2 : 0,872.

De la même manière, à partir des valeurs de r_3 et r_4, non significativement différentes, obtenues ci-dessus pour des caryonides différents appartenant aux souches 60 et 90, on peut estimer l' « héritabilité parentale » : 0,642.

Ces deux valeurs sont significativement différentes l'une de l'autre, au seuil de 0,1 %. L'héritabilité de la F_2 est donc supérieure à l'héritabilité parentale. Ce résultat ne peut être compris que si des gènes interviennent dans le contrôle de la vitesse de multiplication, et si les souches 60 et 90 sont de constitution génique différente.

V. — CONCLUSIONS

Le système de contrôle génétique de la vitesse de multiplication est donc étroitement apparenté à celui qui contrôle la résistance au chlorure de calcium. On y retrouve en effet les 3 mêmes composantes : composante génique, composante macronucléaire, composante cytoplasmique. Les deux premières sont sans doute les plus importantes : on peut en effet supposer que, comme ceci a été démontré pour le déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe B, le cytoplasme a pour seul rôle d'orienter, lors de la reconstitution de l'appareil nucléaire, la différenciation des macronuclei en cours de développement.

Contrairement à ce qui a été observé à propos du déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium, mais comme dans le cas du déterminisme de la résistance au chlorure de sodium, il ne semble pas y avoir complémentarité entre les propriétés des 2 macronuclei au sein d'un même cytoplasme : il y a en effet corrélation positive entre les vitesses de multiplication des 2 caryonides du même clone.

Enfin les résultats obtenus suggèrent qu'un caryonide est hétérogène : l'apparition de cette hétérogénéité, c'est-à-dire la différenciation intracaryonidale, n'a pu être étudiée de façon précise en raison des phénomènes de sélection inévitables.

Des phénomènes de sélection comparables peuvent avoir des répercussions importantes sur les caractéristiques d'une population s'il existe une corrélation entre la vitesse de multiplication et d'autres caractères à déterminisme extrachromosomique. C'est pourquoi il est intéressant de rechercher si de telles corrélations existent. D'autre part, l'existence de corrélations de ce type peut apporter des précisions susceptibles d'éclairer le mécanisme de la différenciation du macronucleus.

CHAPITRE VIII

RECHERCHE DE CORRÉLATIONS ENTRE DIFFÉRENTS CARACTÈRES A DÉTERMINISME EXTRA-CHROMOSOMIQUE

On connaît depuis longtemps [Sonneborn (1937)] le rôle du macronucleus dans le déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe A de *Paramecium aurelia*. Nous avons montré que d'autres caractères ont un déterminisme comparable : la résistance au chlorure de calcium, la résistance au chlorure de sodium, la vitesse de multiplication. On peut se demander si les différenciations subies par le macronucleus pour chacun de ces quatre caractères sont indépendantes les unes des autres. C'est pourquoi il a semblé intéressant de rechercher s'il existe des corrélations entre les quatre caractères.

Ce problème prend un intérêt particulier dans le cas des corrélations éventuelles entre la vitesse de multiplication et les autres caractères, du fait de la sélection indirecte qui se produirait ainsi spontanément au cours de la croissance.

I. — CORRELATIONS ENTRE RESISTANCE AU CHLORURE DE CALCIUM, RESISTANCE AU CHLORURE DE SODIUM ET TYPE SEXUEL

1) Corrélations avec le type sexuel.

Dans une lignée pure de la souche 90, on a isolé après autogamie 31 caryonides dont on a déterminé d'une part le type sexuel, d'autre part la résistance au chlorure de sodium : celle-ci est caractérisée par le temps moyen de survie de 100 individus en présence de milieu de culture additionné de chlorure de sodium à la concentration de 0,12 N. Dix de ces caryonides sont de type I ; les valeurs trouvées pour leurs résistances sont :

21,6	26,1	45,45	23,1
38,6	26,55	39,3	
31,35	54,9	84,15	

Les valeurs des résistances des 21 caryonides de type II sont :

94,8	28,05	52,65	76,8	49,2	59,7	56,25
24,15	25,95	44,85	41,1	40,95	34,5	25,8
36,3	18,75	44,1	61,95	47,95	43,05	22,8

Les 2 moyennes (39,11 pour le type I, 44,27 pour le type II) ne sont pas significativement différentes ($t = 0{,}68$).

Un travail analogue a été effectué pour 54 caryonides dont on a déterminé le type sexuel et la résistance au chlorure de calcium (caractérisée par le paramètre φ). On trouve :

Résistances au chlorure de calcium des 17 caryonides de type I :

52,7	56,8	61,1	58,9	65,9	46,9
61,1	54,7	54,7	52,7	48,8	54,7
37,3	39,2	41,2	56,8	48,8	

Résistances des 37 caryonides de type II :

46,9	50,8	35,3	45,0	48,8
58,9	48,8	63,4	52,7	33,2
56,8	54,7	65,9	45,0	41,2
52,7	41,2	56,8	46,9	71,6
48,8	48,8	43,1	58,9	45,0
61,1	52,7	65,9	54,7	45,0
61,1	46,9	63,4	52,7	50,8
39,2	56,8			

Les deux moyennes (52,49 pour le type I ; 51,66 pour le type II) ne sont pas significativement différentes ($t = 0{,}26$).

La différenciation du macronucleus pour le type sexuel est donc indépendante de sa différenciation pour la résistance au chlorure de calcium et de sa différenciation pour la résistance au chlorure de sodium.

TABLEAU XXIII. — **Résistances au chlorure de calcium et au chlorure de sodium de 30 caryonides de la souche 90.**

N°	φ ($CaCl_2$)	φ (NaCl)
1	26,6	18,4
2	35,3	50,8
3	41,2	26,6
4	15,0	31,1
5	52,7	68,6
6	43,1	56,8
7	48,8	45,0
8	35,3	24,1
9	54,7	52,7
10	46,9	65,9
11	61,1	63,4
12	48,8	48,8
13	35,3	71,6
14	37,3	45,0
15	71,6	68,6
16	41,2	52,7
17	33,2	35,3
18	33,2	48,8
19	43,1	50,8
20	63,4	58,9
21	58,9	48,8
22	48,8	63,4
23	52,7	50,8
24	52,7	37,3
25	50,8	31,1
26	28,9	39,2
27	21,4	54,7
28	24,1	63,4
29	43,1	63,4
30	54,7	71,6

2) Corrélation entre résistances au chlorure de calcium et au chlorure de sodium.

Dans le tableau XXIII sont présentés les résultats des mesures de résistance au chlorure de calcium et au chlorure de sodium de 30 caryonides appartenant à une lignée pure de la souche 90. Les résistances sont caractérisées par le paramètre φ ; les concentrations utilisées pour les tests de résistance sont 0,08 N pour le chlorure de calcium et 0,07 N pour le chlorure de sodium.

Le coefficient de corrélation entre les résistances aux deux sels est de 0,418. Il est significativement positif au seuil de signification de 5 %, mais non au seuil de 1 %. Il subsiste donc un doute sur la réalité de cette corrélation. De toute manière l'existence de cette corrélation, si elle est réelle, n'apporte aucune information sur la différenciation du macronucleus : il se peut en effet qu'elle soit due à l'existence de déterminants macronucléaires contrôlant la résistance à l'ion Cl^-, qui est commun aux deux sels. Le problème intéressant serait alors de savoir dans quelle mesure les trois différenciations concernant les résistances à l'ion Cl^-, à l'ion Ca^{2+} et à l'ion Na^+ sont ou non indépendantes. L'abord de ce problème est très difficile. Il n'a pas été envisagé ici.

II. — CORRELATIONS ENTRE VITESSE DE MULTIPLICATION ET RESISTANCE AUX SELS

1) Résistance au chlorure de sodium.

La corrélation entre vitesse de multiplication et résistance au chlorure de sodium a été étudiée dans des expériences de deux types différents.

Dans une première série d'expériences, le protocole expérimental était le suivant : environ 30 individus sont isolés à partir d'une culture en croissance exponentielle d'une lignée pure de la souche 90 (cette lignée était suffisamment âgée pour être diversifiée). Les sous-clones obtenus sont maintenus en croissance exponentielle pendant 5 jours puis, pour chacun d'eux, 10 individus sont placés dans une concavité : ils s'y multiplient pendant 24 heures, ce qui permet de mesurer leurs vitesses de multiplication ; dans la population obtenue 30 individus sont prélevés pour effectuer le test de résistance.

Dans une seconde série d'expériences, on a opéré de la même façon, mais les 30 individus à partir desquels sont constituées les populations testées sont isolés après autogamie. Ces populations sont donc des caryonides différents.

Deux expériences du 1er type ont été faites : l'une, portant sur 30 sous-clones, l'autre portant sur 28 sous-clones. Dans les 2 cas on a trouvé entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de sodium un coefficient de corrélation de 0,58. Les résultats d'une des deux expériences sont représentés graphiquement par le diagramme de la fig. 25.

Au contraire, dans deux expériences du second type, les coefficients de corrélation trouvés sont voisins de zéro : 0,005 (expérience portant sur 27 caryonides) et — 0,016 (sur 25 caryonides).

Les résultats obtenus sont donc assez surprenants ; il n'y a pas corrélation entre les résistances et les vitesses de multiplication des caryonides, alors qu'il existe une corrélation positive hautement significative entre ces mêmes caractères mesurés sur des sous-clones extraits d'une lignée pure en phase de croissance exponentielle.

Cette différence peut être attribuée à l'intervention de la différenciation intra-caryonidale : les caryonides sont trop hétérogènes pour que la corrélation puisse apparaître. Au contraire, dans une lignée pure âgée en phase de croissance exponentielle, les individus se présentent à des stades variés du cycle d'autogamie et sont pour la plupart à l'origine de sous-caryonides d'ordres très élevés, donc vraisemblablement très homogènes.

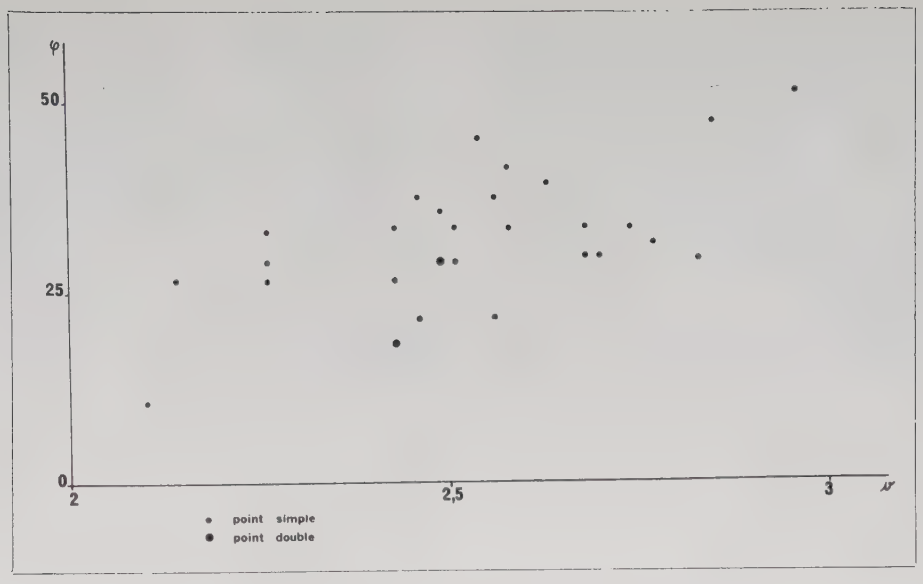

FIG. 25. — Corrélation entre résistance au chlorure de sodium (φ) et vitesse de multiplication (v).

2) RÉSISTANCE AU CHLORURE DE CALCIUM.

La recherche d'une corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium a été conduite de la même manière que celle d'une corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de sodium.

L'étude de divers caryonides d'une même lignée pure de la souche 90 a été faite au cours de 4 expériences qui ont fourni les valeurs suivantes du coefficient de corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium :

+ 0,21 (expérience portant sur 15 caryonides)
— 0,15 (« « « 17 «)
— 0,34 (« « « 22 «)
+ 0,32 (« « « 30 «)

Il semble donc qu'il n'y ait aucune corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium de différents caryonides appartenant à la même lignée pure.

Deux expériences ont été effectuées sur des sous-clones extraits d'une lignée pure âgée en phase de croissance exponentielle. Chacune d'elles porte sur 30 sous-clones. Les deux valeurs trouvées pour le coefficient de corrélation entre vitesse de multiplication et résistance au chlorure de calcium sont + 0,18 et — 0,16.

Quel que soit le type d'expérience réalisé, il n'a donc pas été trouvé de corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium.

Des expériences comparables ont été effectuées sur des Paramécies acclimatées au chlorure de calcium, vivant depuis près de 5 ans à la concentration 0,04 N. Le coefficient de corrélation a été déterminé lors de 3 expériences indépendantes qui ont fourni les valeurs suivantes :

— 0,302 pour 30 couples de mesures
+ 0,287 pour 23 couples de mesures
— 0,081 pour 16 couples de mesures

Ces résultats suggèrent manifestement une absence de corrélation. Toutefois les lignées sur lesquelles sont effectuées les mesures de résistance et de vitesse de multiplication représentent un mauvais échantillonnage de la population dont elles proviennent. En effet, lorsqu'on isole des individus adaptés on constate qu'une fraction importante d'entre eux meurt ou se multiplie excessivement lentement : cette fraction est comprise entre 15 et 20 % et ne peut être utilisée pour les mesures de résistance, celles-ci n'étant faites que sur les lignées à multiplication relativement rapide.

III. — CONCLUSIONS

Une corrélation entre caractères a pu être mise en évidence dans un seul cas : il existe une corrélation positive entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de sodium.

L'existence d'une telle corrélation est importante, car elle est à l'origine d'une sélection indirecte favorisant, dans une population cultivée sur milieu de culture normal, les individus les plus résistants au chlorure de sodium. On conçoit alors que le fait de transférer une population sur un milieu de culture additionné de chlorure de sodium ne modifie pas, ou très peu, la pression de sélection en faveur des individus résistants, de telle sorte que la structure génétique de la population reste inchangée.

Au contraire, dans le cas de l'adaptation au chlorure de calcium, le transfert d'une population sur le milieu toxique introduit une pression de sélection qui n'existe pas sur le milieu de culture normal ; de ce fait la population adaptée doit acquérir une structure génétique différente de celle d'une population normale.

L'existence d'une corrélation positive entre vitesse de multiplication et résistance au chlorure de sodium, l'absence de corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium sont donc des éléments permettant de comprendre pourquoi l'adaptation au chlorure de sodium ne donne pas lieu à des modifications durables, alors que l'adaptation au chlorure de calcium, conduit, elle, à des modifications durables.

Les résultats obtenus présentent un autre intérêt : la différenciation du macronucleus met en jeu plusieurs mécanismes indépendants :

1° un mécanisme de différenciation pour le type sexuel ;

2° un mécanisme de différenciation pour la résistance au chlorure de calcium ;

3° un mécanisme de différenciation agissant simultanément sur la vitesse de multiplication et sur la résistance au chlorure de sodium, ou, plus vraisemblablement, deux mécanismes incomplètement indépendants l'un de l'autre.

Or il existe vraisemblablement d'autres caractères dont le contrôle génétique met en jeu des phénomènes de différenciation comparables. Il est donc probable que la différenciation du macronucleus dans son ensemble est le résultat d'un grand nombre de processus élémentaires indépendants.

DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSIONS

Les résultats obtenus au cours de ce travail peuvent être discutés de deux points de vue différents. Le premier point de vue concerne les déterminismes génétiques de la résistance au chlorure de sodium, de la résistance au chlorure de calcium, et de la vitesse de multiplication. Nous avons déjà signalé l'analogie des mécanismes héréditaires mis en évidence avec les mécanismes de contrôle du type sexuel et du type antigénique chez *Paramecium aurelia* et *Tetrahymena pyriformis :* il importe donc de comparer toutes ces données et en particulier d'examiner si nos résultats peuvent être compris dans le cadre des hypothèses faites par d'autres auteurs sur le mécanisme de la différenciation du macronucleus des Ciliés. Le second point de vue concerne le problème des modifications durables : dans quelle mesure les mécanismes héréditaires précédents peuvent-ils expliquer tous les phénomènes observés ?

Ces deux aspects seront examinés successivement.

I. — LE PROBLEME DE LA DIFFERENCIATION DU MACRONUCLEUS

1) Comparaison avec le déterminisme génétique du type sexuel chez « Paramecium aurelia ».

Le rôle très particulier joué par le macronucleus dans le contrôle de certains caractères héréditaires chez les Ciliés a été mis en évidence pour la première fois de façon claire par Sonneborn (1937) à propos du déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe A de *Paramecium aurelia :* le type sexuel est contrôlé par le macronucleus, qui acquiert sa spécificité lors de sa formation à partir d'un micronucleus. Dans ce cas, la différenciation est irréversible, c'est-à-dire qu'un macronucleus porteur d'une certaine spécificité la transmet sans modification à chacun des macronuclei qui dérivent de lui, soit par division binaire, soit par régénération macronucléaire. Il en résulte que tous les individus constituant un caryonide sont de même type sexuel. Il existe toutefois des exceptions à cette règle, analysées par Kimball (1939) : dans la souche 19 (variété 1), par exemple, il apparaît, avec une fréquence de 3 % environ, des caryonides instables (« selfing-caryonides ») où se produisent au cours de la multiplication asexuée des changements de type sexuel, avec une fréquence de l'ordre de 1 % ; néanmoins, dans ces caryonides instables, il existe toujours un type sexuel fortement majoritaire, de sorte qu'il est logique de parler d'*hérédité caryonidale* à propos du déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe A de *Paramecium aurelia.*

Le déterminisme génétique du type sexuel dans les variétés du groupe B n'est pas fondamentalement différent : les caryonides sont purs pour le type sexuel et c'est le macronucleus qui porte l'information génétique correspondante, sa spécificité étant acquise lors de sa formation à partir d'un micronucleus. Mais, contrairement à ce qui se passe dans les variétés du groupe A, cette spécificité n'est pas acquise de façon aléatoire : le jeune macronucleus en cours de différenciation à la suite de l'autogamie ou de la conjugaison acquiert, dans la très grande majorité des cas, la même spécificité que le macronucleus dont les débris sont présents dans le cytoplasme ou s'effectue la différenciation : formellement, le déterminisme génétique du type sexuel semble cytoplasmique.

Une interprétation semblable peut être fournie pour le contrôle des trois caractères étudiés dans le présent travail : résistance au chlorure de sodium, résistance au chlorure de calcium, vitesse de multiplication. Dans les trois cas, la différenciation du macronucleus est orientée par le cytoplasme dans lequel il se forme, mais non de façon rigoureuse : il tend à acquérir les mêmes caractéristiques que l'ancien macronucleus, mais des écarts sont possibles, qui surviennent de façon aléatoire. La situation est donc intermédiaire entre celles qui ont été décrites à propos du déterminisme génétique du type sexuel ; pour les variétés du groupe A d'une part, les variétés du groupe B d'autre part.

Formellement, dans les trois cas étudiés ici, le système de contrôle génétique admet deux composantes :

— une composante que l'on peut appeler caryonidale, qui se traduit par le fait que la variabilité entre individus d'un caryonide est plus faible que la variabilité d'un clone (celui-ci renferme deux caryonides) ;

— une composante cytoplasmique se traduisant, soit par une corrélation entre les caractéristiques des caryonides du même clone soit par l'existence de différences systématiques entre les deux clones d'un même synclone.

L'analogie avec le système de déterminisme génétique du type sexuel ne s'arrête pas là. Une hétérogénéité génétique intracaryonidale a été mise en évidence de façon particulièrement claire dans le cas de la résistance au chlorure de calcium : pour ce caractère, un sous-caryonide de 1er ordre est plus homogène qu'un caryonide. Un tel résultat doit être rapproché de l'existence des caryonides instables pour le type sexuel, bien qu'une telle instabilité soit exceptionnelle chez *Paramecium aurelia,* alors que l'hétérogénéité intracaryonidale semble être la règle au moins pour la résistance au chlorure de calcium.

2) Les résultats de l'étude de « Tetrahymena pyriformis ».

Les cas les mieux connus d'une hétérogénéité intracaryonidale sont ceux du déterminisme génétique du type sexuel et surtout du type antigénique chez *Tetrahymena pyriformis* (variété 1). Le déterminisme génétique du type sexuel chez ce Cilié est de type caryonidal [Nanney et Caughey (1953)], mais un caryonide peut renfermer des individus de types sexuels différents [Nanney et Caughey (1955)]. L'analyse détaillée de cette hétérogénéité [Allen et Nanney (1958) ; Schensted (1958)], montre que l'on peut extraire d'un caryonide hétérogène des sous-caryonides de deux types, les uns homogènes et stables, les autres hétérogènes. Dans le cas simple où un caryonide ne renferme que deux types sexuels (il en existe 7 chez *Tetrahymena pyriformis,* variété 1), la vitesse d'apparition des sous-caryonides stables est constante : ce résultat conduit à interpréter le macronucleus comme renfermant un certain nombre d'unités autoreproductibles, différenciées de façon stable, et ségrégeant au hasard lors des divisions binaires. Les individus qui, par hasard, posséderaient un macronucleus ne renfermant qu'un type d'unités donneraient naissance à des sous-caryonides homogènes stables ; ceux dont le macronucleus renfermerait des unités de types différents donneraient naissance à des sous-caryonides hétérogènes. D'après la vitesse d'apparition des sous-caryonides stables, on peut évaluer le nombre de ces unités : 45, dans un macronucleus qui vient de subir une division. Il s'agirait de subnuclei diploïdes.

Le déterminisme du type antigénique du groupe H chez *T. pyriformis* met en jeu une différenciation comparable [Nanney et Dubert (1960)]. Il existe une série d'allèles H^A, H^B, H^C, H^D, H^E, dont chacun contrôle la synthèse d'un antigène. On pourrait donc s'attendre à ce qu'un individu hétérozygote tel que H^A/H^B possède deux antigènes. Or il n'en n'est pas toujours ainsi : il existe des lignées, indéfiniment stables au cours de la multiplication végétative, qui ne forment qu'un seul des deux antigènes Ha ou Hb. La perte de l'aptitude à synthétiser un antigène est tout à fait comparable à la stabilisation du type sexuel : les lignées stables apparaissent au cours de la multiplication végétative avec la même vitesse que les lignées stables pour le type sexuel. Les faits observés peuvent être interprétés par la ségrégation au sein du macronucleus de sous-unités diploïdes préalablement différenciées. Les différenciations pour le type sexuel et pour le type antigénique semblent indépendantes.

Les sous-unités d'un même macronucleus tendent à se différencier dans le même sens : un caryonide présente en général un type sexuel largement dominant [Nanney et Allen (1959)] et, si l'on définit le « rendement » en l'un des deux types antigéniques possibles dans une lignée hétérozygote (« *output ratio* »), il y a corrélation entre les valeurs prises par ce paramètre chez les deux sous-caryonides I d'un même caryonide dans le cas de l'hétérozygote H^A/H^D [Nanney, Nagel et Touchberry (1964)]. Ces derniers résultats, acquis à la suite d'une expérimentation analogue à celle que nous avons effectuée pour mettre en évidence le déterminisme génétique extra-chromosomique de la résistance au chlorure de sodium ou de la résistance au chlorure de calcium, sont considérées par leurs auteurs comme prouvant que la différenciation des sous-unités (la différenciation consiste, pour chaque sous-unité, en l'inactivation définitive d'un des allèles) se produit avant la première division du jeune macronucleus. Il n'en n'est cependant pas ainsi chez les hétérozygotes H^C/H^D ou H^A/H^E : dans ces deux cas, la différenciation se poursuivrait après la première et peut-être même après la deuxième division du jeune macronucleus. Quels que soient les allèles en présence, aucune influence cytoplasmique n'a été détectée.

3) Les faits observés chez « Paramecium aurelia » peuvent-ils être interprétés a l'aide d'un modèle identique a celui proposé pour « Tetrahymena pyriformis » ?

Les résultats rappelés ci-dessus sont très proches de ceux que nous avons obtenus par exemple à propos du déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium chez *Paramecium aurelia.* Il faut donc rechercher si le modèle proposé par Nanney et ses collaborateurs pour la structure et la différenciation du macronucleus de *Tetrahymena pyriformis* est susceptible d'expliquer les faits observés chez *Paramecium aurelia.*

Il faut remarquer que, si le macronucleus est composé de sous-unités diploïdes, celles-ci seront en nombre plus grand chez *P. aurelia* que chez *T. pyriformis :* il devrait y en avoir 430 puisque le macronucleus renferme 430 fois plus d'ADN que le micronucleus (Woodard, Gelber et Swift, 1961).

a) *Déterminisme du type sexuel.* — Le déterminisme

du type sexuel chez *P. aurelia* peut être compris dans le cadre du modèle proposé : il est en effet proche du déterminisme du type sexuel chez *T. pyriformis* qui a précisément servi de base à l'établissement du modèle. On note toutefois deux différences : la rareté des caryonides instables chez *P. aurelia* et l'influence du cytoplasme sur la différenciation du macronucleus dans les variétés du groupe B.

La première de ces différences peut être mise en relation avec le nombre de sous-unités supposées présentes dans le macronucleus. On peut en effet admettre qu'il existe deux types de ces sous-unités, correspondant à chacun des types sexuels complémentaires, chaque macronucleus renfermant soit un seul type de sous-unités, soit les deux types, mais en proportions très différentes, ce qui traduirait une coordination intranucléaire comparable à celle qui a été mise en évidence chez *T. pyriformis* par Nanney et Allen (1959). Le type sexuel exprimé par un individu pourrait alors être celui correspondant au type de sous-unités majoritaires dans le macronucleus. Au cours des divisions successives d'un tel macronucleus, il peut apparaître, avec une probabilité faible, des noyaux renfermant en majorité des sous-unités du type qui était initialement minoritaire : d'où un changement de type sexuel au cours de la vie végétative. Les individus affectés par ce changement possédant eux-mêmes un macronucleus hétérogène, on peut prévoir des réversions dans leur descendance : c'est bien ce qui se passe dans les caryonides instables (Kimball, 1939).

Quant à l'influence cytoplasmique sur la différenciation du macronucleus, elle n'est évidemment pas incompatible avec le modèle proposé.

b) *Déterminisme de la résistance au chlorure de sodium et de la vitesse de multiplication.* — L'interprétation proposée par Nanney et ses collaborateurs pour la différenciation du macronucleus est également valable à propos du contrôle génétique de la résistance au chlorure de sodium et de la vitesse de multiplication. Les seules différences avec le déterminisme du type sexuel peuvent être mises en relation avec le fait qu'il s'agit de caractères quantitatifs. Les phénomènes de différenciation intracaryonidale ont la même signification que l'existence de caryonides instables pour le type sexuel. Aucun argument ne permet de penser que dans ces cas il n'existe que deux types de sous-unités différenciées : on peut très bien envisager l'existence de plusieurs types, correspondant chacun, s'il était seul présent dans le macronucleus, à un certain niveau de résistance. Mais il est difficile d'envisager une expérimentation permettant de « compter » les types de sous-unités.

Il existe dans les deux cas une influence cytoplasmique sur la différenciation du macronucleus. Ce contrôle cytoplasmique est moins rigoureux que dans le déterminisme du type sexuel dans les variétés du groupe B, ce qui se traduit par l'existence fréquente de différences entre les caryonides du même clone, bien que ces différences soient moins importantes qu'entre caryonides appartenant à des clones différents.

c) *Déterminisme de la résistance au chlorure de calcium.* — Le cas du contrôle génétique de la résistance au chlorure de calcium n'est pas très différent. Deux points sont néanmoins à souligner : l'existence de différences entre les deux sous-caryonides I d'un même caryonide, et la corrélation négative entre les résistances moyennes des deux caryonides du même clone.

Sur le premier point on peut admettre comme le font Nanney, Nagel et Touchberry (1964) à propos du déterminisme du type antigénique chez *Tetrahymena,* que la différenciation des sous-unités du macronucleus n'est pas terminée lorsque celui-ci subit sa première division.

L'existence d'une corrélation négative entre les résistances moyennes des deux caryonides du même clone pose un problème sur les échanges d'information entre le macronucleus dégénérescent et les macronuclei en formation chez un individu sortant d'autogamie ou de conjugaison. Tout se passe comme si c'était la quantité d'une substance présente dans le macronucleus qui déterminait ses possibilités de différenciation : la quantité totale de cette substance présente dans le cytoplasme d'un individu en cours de réorganisation nucléaire serait fixée par l'ancien macronucleus, et il y aurait compétition pour cette substance entre les deux jeunes macronuclei. Ce schéma ne représente évidemment pas une hypothèse, mais une simple illustration des phénomènes observés. Il est bien difficile de comprendre pourquoi une telle complémentarité n'est pas observée dans le cas du contrôle génétique de la résistance au chlorure de sodium.

4) Conclusion.

Cette comparaison des différents caractères contrôlés par le macronucleus des Ciliés montre une grande variabilité dans les détails de ce contrôle d'un exemple à l'autre. Cette variabilité ressort clairement de l'examen du tableau XXIV où sont résumés les principaux faits actuellement connus concernant l'*hérédité caryonidale.*

Une telle variabilité peut paraître surprenante. En particulier il est difficile de comprendre les différences constatées entre les hétérozygotes H^A/H^D et H^C/H^D de *Tetrahymena pyriformis :* dans le premier cas la différenciation semble terminée lorsque le macronucleus nouvellement formé entre en division ; dans l'autre cas, elle ne s'achèverait que plus tard. Ces observations paraissent en contradiction avec les conclusions suivant lesquelles la différenciation des sous-unités du macronucleus s'effectuerait à un stade où il en renfermerait au moins 16 chez l'hétérozygote H^A/H^D, au maximum 8 chez l'hétérozygotes H^C/H^D [Nanney, Nagel et Touchberry (1964)]. Il est vrai que ces dernières conclusions reposent sur l'hypothèse que les sous-unités se différencient indépendamment les unes des autres au sein du même macronucleus, hypothèse qui semble assez hasardeuse.

Un des problèmes qui se posent à propos de l'hérédité caryonidale est donc la compréhension de cette variabilité. Les recherches entreprises dans ce but doivent conduire à préciser, ou peut-être à réviser, l'hypothèse suivant laquelle le macronucleus est constitué de sous-unités diploïdes irréversiblement différenciées ; l'état

TABLEAU XXIV. — **Comparaison des différentes modalités de l'hérédité caryonidale.**

Espèce	« Paramecium aurelia »					« Tetrahymena pyriformis »			
Caractère étudié	Type sexuel		Résistance à $CaCl_2$	Résistance à NaCl	Vitesse de multiplication	Type sexuel	Type antigénique		
	A	B					$\frac{H^A}{H^D}$	$\frac{H^C}{H^D}$	$\frac{H^A}{H^E}$
Corrélation entre macronuclei formés dans le même cytoplasme ...	0	+++	—	+	+	0	0	0	0
Différences entre sous-caryonides I	0	0	+	0	?	?	0	+	+
Différenciation au cours de la vie végétative	Rare		?	?	+	+	+	+	+

diploïde de ces unités, en particulier, ne peut être considéré comme établi de manière solide.

Un second problème concerne la nature de la différenciation de ces sous-unités elles-mêmes : il faut connaître la raison pour laquelle, au sein d'une même structure hétérozygote, un allèle H s'exprime alors que l'autre est inactif. On peut, par comparaison avec les mécanismes connus chez les bactéries émettre l'hypothèse que des phénomènes de répression sont à la base de l'inactivation d'un gène : mais la répression telle qu'elle est connue chez les bactéries est un phénomène réversible alors que la différenciation des sous-unités du macronucleus est irréversible. Ceci est d'ailleurs un aspect du problème général de la différenciation cellulaire. Le problème est particulièrement complexe, semble-t-il, dans le cas du déterminisme du type sexuel chez *Tetrahymena pyriformis,* car on ne connaît pas de relation biunivoque entre gènes et types sexuels : les gènes connus déterminent chacun tout un éventail de potentialités. La différenciation ne consiste peut-être pas, dans ce cas, en une réponse à une simple alternative, activité ou non-activité d'un gène, mais en un choix entre plusieurs types d'activités d'une partie du matériel génétique.

Le cas particulier des caractères quantitatifs pose le problème suivant : la différenciation observée à propos du contrôle d'un tel caractère peut-elle être considérée comme le résultat de *différenciations élémentaires* au niveau de chacun des loci d'un système polygénique ? Une telle différenciation élémentaire pourrait consister pour chacun des gènes en l'acquisition définitive d'un état d'activité ou de non activité. Mais il est possible que d'autres mécanismes interviennent dans la différenciation.

Dans les phénomènes de différenciation qui affectent le macronucleus, on peut se demander quel rôle exact est joué par l'état hautement polyploïde du macronucleus : s'agit-il exclusivement d'une multiplication de sous-unités ou bien le degré de polyploïdie intervient-il directement dans le déterminisme de certains caractères ? Cette éventualité est loin d'être exclue, puisqu'il semble exister, chez *Paramecium caudatum,* une relation entre la teneur en A.D.N. du macronucleus et l'état de sénescence [Blanc (1963)].

Enfin il serait intéressant de connaître le degré de généralité de l'hérédité caryonidale. Les caractères soumis à un tel contrôle sont-ils exceptionnels, ou bien s'agit-il d'un mécanisme héréditaire très répandu chez les Ciliés ? Tous les exemples connus concernent seulement deux espèces ; il serait intéressant d'en étudier d'autres. Des comparaisons fructueuses pourraient être faites, en liaison avec les particularités morphologiques et biochimiques des macronuclei des différentes espèces.

II. — LE PROBLEME DES MODIFICATIONS DURABLES

L'existence d'un mécanisme extrachromosomique de contrôle de la *résistance au chlorure de calcium* fournit une base permettant de comprendre que l'adaptation à ce sel conduise à une augmentation de résistance présentant les caractères d'une modification durable. En effet le jeu de la différenciation du macronucleus fait apparaître dans une lignée pure une certaine hétérogénéité génétique. Une telle population génétiquement hétérogène peut donner prise à la sélection de sorte que, en présence de chlorure de calcium à concentration sub-léthale, soient éliminés les individus héréditairement moins résistants.

Dire que les individus les moins résistants sont éliminés ne signifie pas qu'ils sont nécessairement tués par le toxique à la concentration utilisée pour l'adaptation : il suffit qu'ils s'y multiplient moins rapidement que les autres. Nous n'avons pas obtenu de vérification expérimentale de cette hypothèse : il ne semble pas y avoir de corrélation entre la résistance au chlorure de calcium et la vitesse de multiplication chez les populations adap-

tées. Mais nous avons déjà signalé (chapitre VIII), que ce résultat ne peut être considéré comme probant : en effet, l'expérience est réalisée en isolant à partir d'une population adaptée un certain nombre d'individus. Au bout de quelques jours chacun d'eux a engendré un clone dont on peut, par les techniques ordinaires, mesurer la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium, à condition que l'effectif soit suffisant pour permettre ces mesures. Ce n'est pas le cas pour tous les clones obtenus : dans l'expérience décrite, sur 60 individus isolés, 9 avaient fourni au bout de 4 jours des clones dont l'effectif était inférieur à 4 individus. Suivant les expériences, la proportion d'individus qui meurent ou dont la vitesse de multiplication est très faible, varie de 10 à 20 %.

Cette proportion relativement importante traduit l'existence permanente, au sein de la population adaptée, d'une pression de sélection dont il est très vraisemblable qu'elle s'exerce aux dépens des individus les moins résistants au chlorure de calcium.

Une population adaptée, cultivée en présence de chlorure de calcium à 0,04 N, est donc soumise, du point de vue de sa structure génétique, à deux influences opposées : une *tendance à la diversification,* due à la mise en jeu des mécanismes de différenciation du macronucleus, et *une tendance à la perte de son hétérogénéité génétique,* au fur et à mesure de son acquisition, par élimination des individus les moins résistants. La résultante de ces deux phénomènes doit être, dans une première phase de l'adaptation, une augmentation de la résistance moyenne de la population, accompagnée de la perte de son hétérogénéité génétique, puis, dans une seconde phase, le maintien, par le jeu de la sélection, de la résistance au niveau maximum atteint, l'hétérogénéité génétique de la population restant très faible.

En l'absence d'hétérogénéite génétique pour la résistance au chlorure de calcium, il devient évidemment illusoire de rechercher une corrélation entre ce caractère et n'importe quel autre, à moins que cette corrélation ne soit purement phénotypique. Il n'y a donc pas à s'étonner, dans ces conditions, de n'avoir pas trouvé de corrélation entre la vitesse de multiplication et la résistance au chlorure de calcium des populations adaptées à ce sel.

Une population cultivée un temps suffisant en présence de chlorure de calcium est donc caractérisée par une faible hétérogénéité génétique et un niveau élevé de résistance au chlorure de calcium. Repiquée sur milieu normal elle retrouvera, du fait de la différenciation, une hétérogénéité génétique, ce qui ne peut que diminuer sa résistance moyenne : celle-ci diminuera progressivement jusqu'à ce que le jeu de la différenciation, en l'absence de sélection, conduise à une population présentant la même résistance moyenne qu'une population non adaptée.

En fait, ce retour aux conditions initiales est freiné par l'intervention des mécanismes, agissant à la manière de facteurs cytoplasmiques, qui font qu'un macronucleus nouveau tend à se différencier dans le même sens que celui qui l'a précédé dans le même cytoplasme.

L'hypothèse faite explique donc de façon satisfaisante qu'une population adaptée au chlorure de calcium présente une augmentation de la résistance à ce sel, avec les caractères d'une modification durable.

Elle explique aussi que l'*adaptation au chlorure de sodium* ne conduise *pas* à une modification durable. En effet, bien que la différenciation macronucléaire soit dans ce cas également susceptible d'introduire dans une population une hétérogénéité génétique, le fait que cette population soit cultivée en présence de chlorure de sodium n'apporte pas une modification importante des facteurs sélectifs qui s'y exercent. Une sélection s'exerce automatiquement, dans les populations non adaptées, en faveur des individus les plus résistants au chlorure de sodium par le jeu de la corrélation qui existe entre vitesse de multiplication et résistance au chlorure de sodium. De la sorte on conçoit que le fait de cultiver des populations en présence de chlorure de sodium ne modifie pas, ou du moins très peu, la pression de sélection, et que dans ces conditions l'adaptation ne modifie pas, ou trop peu pour que cela puisse être détecté, les propriétés héréditaires de la population. L'augmentation de résistance provoquée par l'exposition au sel est purement phénotypique.

Un point, cependant, reste obscur : *l'adaptation au chlorure de calcium* peut conduire dans certains cas, non à une augmentation de la résistance, mais à une diminution de celle-ci, c'est-à-dire une *sensibilisation.* Il est particulièrement étonnant qu'une même population adaptée puisse présenter à des époques différentes les deux comportements apparemment opposés, tous deux se présentant comme des modifications durables. Aucune explication satisfaisante n'a été trouvée pour rendre compte de ces faits. Il ne semble pas qu'une population passe systématiquement d'abord par un stade de grande résistance puis par un stade de faible résistance, bien que le phénomène de sensibilisation semble plus fréquent dans les populations les plus anciennement adaptées (depuis plusieurs années). Des expériences sont en cours pour rechercher s'il existe une relation entre le type de désadaptation et le temps écoulé depuis la réalisation de l'adaptation. Une difficulté de ce genre d'expériences est de maintenir constantes les conditions de culture pendant un temps très long. Il est en effet assez facile d'obtenir, dans le cas de cultures de populations non adaptées, des conditions relativement constantes en les maintenant en permanence à un rythme de multiplication aussi élevé que possible : il suffit pour cela de renouveler le milieu de culture bien avant qu'il ne soit épuisé. Dans le cas de populations adaptées au chlorure de calcium, cette méthode conduit à des déboires, car il semble qu'un rythme élevé de multiplication ne puisse être supporté plus de quelques jours par les Paramécies. Les cultures sont bien plus florissantes lorsque le milieu de culture n'est renouvelé qu'après épuisement complet : dans de telles cultures, les conditions de milieu sont très variables, et les facteurs sélectifs sont nombreux et difficiles à analyser.

Il est fort possible que, au cours des expériences que nous avons faites, les conditions de sélection aient varié

quelque peu. Par exemple, pendant un laps de temps de 5 ans, nous avons utilisé des milieux de culture fabriqués avec des lots de laitue d'origines différentes ; ces milieux de culture pouvaient avoir des valeurs nutritives légèrement différentes, malgré les précautions prises à cet égard. Si l'on maintient constant l'intervalle de temps séparant les renouvellements des milieux de cultures, les Paramécies subissent les effets de l'épuisement du milieu de façon plus ou moins intense suivant sa valeur nutritive. Ceci revient à dire que les conditions de sélection peuvent varier.

De nouvelles expériences devront donc être effectuées dans le but de préciser de façon aussi rigoureuse que possible les conditions de sélection au sein des populations adaptées, et leurs variations en fonction des différents facteurs que l'on peut envisager, en particulier le temps écoulé depuis le début de l'adaptation et le cycle de renouvellement de la nourriture.

Les résultats qui viennent d'être discutés ne mettent donc pas un point final à la résolution du problème posé au début de ce travail, celui du déterminisme des modifications durables. Une ébauche de solution a été obtenue : le point essentiel est que les modifications durables résultent, selon toute vraisemblance, de phénomènes de sélection, cette sélection s'exerçant aux dépens d'une hétérogénéité introduite par la différenciation des macronuclei. Si certains aspects, notamment les phénomènes de sensibilisation, ne sont pas encore compris, il est probable qu'ils pourront être interprétés par une étude approfondie des modalités de la sélection. Il semble donc inutile de postuler des mécanismes de type Lamarckien dans le déterminisme des modifications durables. On peut toutefois se demander quel est le degré de généralité de cette interprétation. On peut concevoir qu'elle soit valable pour les modifications durables concernant l'adaptation à l'anhydride arsénieux, au chlorure de calcium et aux températures élevées chez différentes espèces de Paramécies [Jollos (1921) ; Orlova (1941) ; Poljanski (1958)]. Mais des modifications durables ont été décrites chez d'autres organismes : *Arcella* [Jollos (1924)], *Chlamydomonas* [Moewus (1934)], Protistes dont l'appareil nucléaire est très différent de celui des Ciliés, et même chez des êtres pluricellulaires, tels que *Phaseolus* [Hofmann (1927)] : il s'agit certainement, au moins dans ce dernier cas, de mécanismes fondamentalement différents de ceux que nous avons décrits.

Si l'on peut donc regretter que l'étude des modifications durables chez les Paramécies ne semble pas susceptible d'apporter une solution d'ensemble au problème des modifications durables chez tous les organismes, il est par contre un aspect de ce travail qui touche à un problème très général : l'hérédité caryonidale est l'expression de phénomènes de différenciation du matériel génétique. De tels phénomènes ont été largement étudiés, durant les dernières années, chez les Bactéries, mais on dispose à l'heure actuelle de peu de données permettant de transposer les résultats obtenus au cas des cellules « Eucaryotes ». L'étude précise les mécanismes de la différenciation du macronucleus des Ciliés est susceptible d'apporter à ce sujet des renseignements intéressants.

BIBLIOGRAPHIE

ALLEN S. L., NANNEY D. L. — An analysis of nuclear differenciation in the selfers of « Tetrahymena ». *Amer. Nat.*, 1958, *92*, 139-160.

BALBIANI E. G. — Etudes sur l'action des sels sur les infusoires. *Arch. Anat. microsc.*, 1898, *2*, 318-600.

BEALE G. H. — Antigen variation in « Paramecium aurelia », variety 1. *Genetics*, 1952, *37*, 62-74.

BEALE G. H. — Adaptations in « Paramecium » : In : « Adaptation in microorganisms » (publié sous la direction de R. DAVIES et E. F. GALE). Cambridge University press, 1953, 294-305.

BEALE G. H. — The genetics of « Paramecium aurelia ». Cambridge University Press, 1954.

BLANC J. — Troubles de la teneur en ADN dans le macronucleus de certains mating-types de paramécies ayant perdu leur réactivité sexuelle. *Arch. Zool. exp. gén.*, 1963, *102*, 173-176.

BRUTKOWSKA M. — Prolonged action of calcium chloride on « Paramecium caudatum ». *Acta Biol. exper.*, 1959, *19*, 137-149.

CASPARI E. — Cytoplasmic inheritance. *Adv. Genet.*, 1948, *2*, 1-66.

CHILD C. M., DEVINEY E. — Contributions to the physiology of « Paramecium caudatum ». *J. Exp. Zool.*, 1926, *43*, 257-312.

DILLER W. F. — Nuclear reorganization processes in « P. aurelia » with description of autogamy and « hemixis ». *J. Morph.*, 1936, *59*, 11-67.

EPHRUSSI B. — Nucleo-cytoplasmic relations in microorganisms. Clarendon Press, Oxford, 1953.

FINGER I., HELLER C. — Cytoplasmic control or gene expression in « Paramecium ». — I. Preferential expression of a single allele in heterozygotes. *Genetics*, 1963, *49*, 485-498.

FINLEY H. E. — Toleration of fresh-water protozoa to increasing salinity. *Ecology*, 1930, *11*, 337-347.

FISHER R. A., YATES F. — Statistical tables for biological, agricultural and medical research (5e édition). Oliver and Boyd, 1957.

FRISCH J. A. — Experimental adaptation of fresh-water ciliates to sea water. *Science*, 1935, *81*, 537.

FRISCH J. A. — The experimental adaptation of « Paramecium » to sea water. *Arch. Protistenk*, 1939, *93*, 38-71.

GAUSE G. F. — Rôle de la sélection naturelle dans l'acclimatation à différentes salinités du milieu chez « *Euplotes* ». *J. Exp. Zool.*, 1941, *87*, 85-100.

GAUSE G. F. — The relation of adaptability to adaptation. *Quart. Rev. Biol.*, 1942, *17*, 95-114.

GAUSE G. F., ALPATOW W. W. — On the inverse relation between inherent and acquired properties of organisms. *Amer. Nat.*, 1945, *79*, 478-480.

GENERMONT J. — Déterminants génétiques macronucléaires et cytoplasmiques contrôlant la résistance au chlorure de calcium chez « Paramecium aurelia » (souche 90, variété 1). *Ann. Génét.*, 1961, *3*, G1-G8.

GENERMONT J. — Déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium chez « Paramecium aurelia », variété 1. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 1963, *102*, 181-182.

HERTWIG R. — Über die Conjugation der Infusorien. *Abhandl. bayer. Akad. Wiss.*, 1889, *17*, 150-233.

HOFMANN F. W. — Some attempts to modify the germ plasm of « Phaseolus vulgaris ». *Genetics,* 1927, *12,* 284-294.

JACOB F., MONOD J. — Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.,* 1961, *3,* 318-356.

JOLLOS V. — Experimentelle Protistenstudien. — I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. *Arch. Protistenk.,* 1921, *43,* 1-122.

JOLLOS V. — Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Arcellen. *Biol. Zbl.,* 1924, *44,* 194-208.

JOLLOS V. — Dauermodifikationen und Mutationen bei Protozoen. *Arch. Protistenk.,* 1934, *83,* 197-219.

JURAND A., BEALE G. H., YOUNG M. R. — Studies on the macronucleus of « Paramecium aurelia. — I (with a note on ultraviolet micrography). *J. Protozool.,* 1962, *9,* 122-131.

KIMBALL R. F. — Change of mating-type during vegetative reproduction in « Paramecium aurelia ». *J. Exp. Zool.,* 1939, *81,* 165-179.

MASSART J. — Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines. *Arch. Biol.,* 1889, *9,* 515-570.

MAUPAS E. — Le rajeunissement caryogamique chez les Ciliés. *Arch. Zool. Exp. Gén.,* 1889, *7,* 149-517.

MOEWUS F. — Über Dauermodifikationen bei Chlamydomonaden. *Arch. Protistenk.,* 1934, *83,* 220-240.

NANNEY D. L. — Mating-type determination in « Paramecium aurelia ». A study in cellular heredity. *In :* « Sex in microorganisms », 266-283 (publié sous la direction de D. H. WENRICH). A.A.A.S. Publications, 1954.

NANNEY D. L. — Caryonidal inheritance and nuclear differenciation. *Amer. Nat.,* 1956, *90,* 291-307.

NANNEY D. L. — Mating-type inheritance at conjugation in variety 4 of « Paramecium aurelia ». *J. Protozool.,* 1957, *4,* 89-95.

NANNEY D. L. — Epigenetic factors affecting mating-type expression in certain Ciliates. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.,* 1958 *a, 23,* 327-335.

NANNEY D. L. — Epigenetic control systems. *Proc. Nat. Acad. Sci.* (Wash.), 1958 b, *44,* 712.

NANNEY D. L. — The relationship between the mating-type and the serotype systems in « Tetrahymena ». *Genetics,* 1960, *45,* 1351-1358.

NANNEY D. L. — Aspects of mutual exclusion in « Tetrahymena ». *In :* « Biological organization at cellular and supercellular levels », 91-109 (publié sous la direction de R. J. C. HARRIS), 1963.

NANNEY D. L., ALLEN S. L. — Intranuclear coordination in « Tetrahymena ». *Physiol. Zool.,* 1959, *32,* 221-229.

NANNEY D. L., CAUGHEY P. A. — Mating-type determination in « Tetrahymena pyriformis ». *Proc. Nat. Acad. Sci.,* (Wash.), 1953, *39,* 1057-1063.

NANNEY D. L., CAUGHEY P. A. — An unstable condition in « Tetrahymena pyriformis ». *Genetics,* 1955, *40,* 388-398.

NANNEY D. L., CAUGHEY P. A., TEFANKJIAN A. — The genetic control of mating-type potentialities in « Tetrahymena pyriformis ». *Genetics,* 1955, *40,* 668-680.

NANNEY D. L., DUBERT J. M. — The genetics of the H serotype system in variety 1 of « Tetrahymena pyriformis ». *Genetics,* 1960, *45,* 1335-1349.

NANNEY D. L., NAGEL M. J. et TOUCHBERRY R. W. — The timing of H antigenic differenciation in « Tetrahymena ». *J. Exp. Zool.,* 1964, *155,* 25-42.

NANNEY D. L., REEVE S. J., NAGEL M. J., de PINTO S. — H serotype differenciation in « Tetrahymena ». *Genetics,* 1963, *48,* 803-813.

ORLOVA A. F. — Modifications durables chez « Paramecium caudatum » et « P multimicronucleatum » (en Russe). *Zool. Zh.,* 1941, *20,* 341-370.

POLJANSKI G. I. — Sur les modifications durables des infusoires provoquées par l'influence des températures élevées et basses, et sur leur importance adaptative. C. R. 13e Congrès. Int. Zool., 1948, 204-205.

POLJANSKI G. I. — Temperaturadaptation bei Ziliaten. — I. Die Abhängigkeit den Temperatur-Existenzbedigungen. *Sowietwiss. Naturwiss. Beitr.,* 1958, *7,* 767-784.

RAFFEL D. — The occurence of gene mutations in « Paramecium aurelia ». *J. Exp. Zool.,* 1932, *63,* 371-412.

SCHENSTED I. V. — Model of subnuclear segregations in the macronucleus of Ciliates. *Amer. Nat.,* 1958, *92,* 161-169.

SONNEBORN T. M. — Sex, sex-inheritance and sex-determination in « Paramecium aurelia ». *Proc. Nat. Acad. Sci.* (Wash.), 1937, *23,* 378-385.

SONNEBORN T. M. — Recent advances in the genetics of « Paramecium » and « Euplotes ». *Adv. Genet.,* 1947, *1,* 264-358.

SONNEBORN T. M. — The determination of hereditary antigenic differences in genically identical cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* (Wash.), 1948, *34,* 413-418.

SONNEBORN T. M. — Methods in the general biology and genetics of « Paramecium aurelia ». *J. Exp. Zool.,* 1950, *113,* 87-147.

SONNEBORN T. M. — The role of the genes in cytoplasmic inheritance. *In :* « Genetics in the XXth century », 291-314 (publié sous la direction de L. C. DUNN). Mac Millan Co, 1951.

SONNEBORN T. M. — Electron micrographs of ultra-thin sections of the nuclei of « Paramecium aurelia ». *Microb. Genet. Bull.,* 1953, *7,* 24.

SONNEBORN T. M. — Breeding systems, reproductive methods and species problems in Protozoa. *In :* « The species problem », 155-324 (publié sous la direction de E. MAYR), A.A.A.S. Publications, 1957.

SONNEBORN T. M., LE SUER A. — Antigenic characters in « Paramecium aurelia » (variety 4) : determination, inheritance and induced mutations. *Amer. Nar.,* 1948, *82,* 69-78.

VIVIER E. — Contribution à l'étude de la conjugaison chez « Paramecium caudatum ». *Ann. Sc. Nat. Zool.,* 1960, 12e série, *2,* 387-506.

WICHTERMAN R. — The biology of « Paramecium ». Blakiston Company Inc., 1953.

WOODARD J., GELBER B., SWIFT H. — Nucleoprotein changes during the mitotic cycle in « Paramecium aurelia ». *Exptl. Cell. Res.,* 1961, *23,* 258-264.

WOODRUFF L. L., BUNZEL H. H. — The relative toxicity of various salts and acids towards « Paramecium ». *Am. J. Physiol.,* 1909, *25,* 190-194.

WOODRUFF L. L., ERDMANN R. — A normal periodic reorganization process without cell fusion in « Paramecium ». *J. Exp. Zool.,* 1914, *17,* 425-518

TABLE DES MATIÈRES

Avant-propos 6

Introduction 7

Chapitre I. — Le matériel : « Paramecium aurelia » 9

I. — Morphologie. Appareil nucléaire 9
II. — Reproduction 9
III. — Variétés et types sexuels 10
IV. — Souches utilisées 11
V. — Terminologie 12

Chapitre II. — Techniques 13

I. — Cultures 13
II. — Induction des processus sexuels 14
III. — Mesure de la vitesse de multiplication d'une population 15
IV. — Tests de résistance 16

Chapitre III. — Adaptation au chlorure de sodium et du chlorure de calcium 19

I. — L'adaptation au chlorure de sodium .. 19
II. — L'adaptation au chlorure de calcium . 21
III. — Conclusions 23

Chapitre IV. — La désadaptation et le problème des modifications durables 25

I. — La désadaptation des populations adaptées au chlorure de sodium 25
II. — La désadaptation des populations adaptées au chlorure de calcium 25
III. — Conclusions 28

Chapitre V. — Le déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium 29

I. — Acquisition d'une hétérogénéité génétique par une lignée pure 29
II. — Contrôle génique de la résistance au chlorure de calcium 31
III. — Contrôle extrachromosomique de la résistance au chlorure de calcium .. 33
IV. — Conclusions 37

Chapitre VI. — Déterminisme génétique extrachromosomique de la résistance au chlorure de sodium 39

I. — Première partie de l'expérimentation : rôle du cytoplasme 39
II. — Seconde partie de l'expérimentation : rôle du macronucleus 40
III. — Conclusions 43

Chapitre VII. — Le déterminisme génétique de la vitesse de multiplication 45

I. — Existence d'un contrôle génétique de la vitesse de multiplication 45
II. — Contrôle génétique cytoplasmique de la vitesse de multiplication 46
III. — Contrôle macronucléaire de la vitesse de multiplication 48
IV. — Recherche d'un contrôle génique de la vitesse de multiplication 51
V. — Conclusions 54

Chapitre VIII. — Recherche de corrélations entre différents caractères a déterminisme génétique extrachromosomique 55

I. — Corrélations entre résistance au chlorure de calcium, résistance au chlorure de sodium et type sexuel 55
II. — Corrélations entre vitesse de multiplication et résistance aux sels 56
III. — Conclusions 57

Discussion générale et conclusions 59

I. — Le problème de la différenciation du macronucleus 59
II. — Le problème des modifications durables 62

Bibliographie 64

Deuxième thèse

Propositions données par la Faculté :

« Données récentes sur la structure et les fonctions des ribosomes »

Vu et approuvé :

Paris, le 9 mars 1966

Le Doyen de la Faculté des Sciences :

Marc Zamansky

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean Roche

Langres. — Imprimerie de Champagne.

N° d'ordre 0.279. — Juillet 1966. — Dépôt légal 3e trimestre 1966.